

UNIVERSIDAD DE CUENCA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**“BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS
POR DERRAMES DE LA ESTACIÓN DE SERVICIO EN EL CAMPAMENTO
DE GUARUMALES-CELEC”**

Tesis previa a la obtención
del título de Ingeniero Ambiental

AUTORES:

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
C.I. 0104512249
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA
C.I. 0104896758

DIRECTOR:

ING. MARCO TULIO RAMÍREZ MATAMOROS. MSc
C.I. 702774936

CUENCA – ECUADOR

2017



RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto de la materia orgánica (Compost) y Biosurfactante (Ácido Húmico) para la biorremediación sedimentos contaminados con hidrocarburos de la Estación de Servicio de Combustible del campamento Guarumales –CELEC EP, estos sedimentos son producto del progresivo deterioro en las instalaciones de los tanques subterráneos de la estación de servicio, los cuales han causado percolaciones de gasolina hacia la superficie del lugar.

Para el desarrollo del proceso de biorremediación mediante la técnica de compost, se propuso 4 tratamientos (T1, T3, T5, T7) con su respectiva repetición T2(RepeticiónT1), T4(RepeticiónT3), T6(RepeticiónT5) y T8(RepeticiónT7). La investigación también contó con dos parcelas testigo.

La investigación empezó con un valor promedio de 21958 mg/kg de HTP y presento una concentración promedio final de 2423.5 mg/kg de HTP, reduciéndose 19534.5 mg/kg HTP con el T1 (Materia Orgánica 6 lb + Surfactante 4 lb), siendo el tratamiento más eficiente con 88.96 % durante la investigación. Por otra parte, las concentraciones de plomo empezaron con un valor promedio de 54.5 mg/kg Pb y presentó una concentración final de 69.5 mg/kg Pb, incrementándose 15 mg/kg Pb con el T1, siendo el tratamiento menos eficiente durante la investigación.

En los testigos, las concentraciones de HTP presentaron una valor promedio final de 6747.5 mg/kg HTP, reduciéndose 15210.5 mg/kg HTP durante la investigación; en cuanto al plomo, los resultados presentaron un valor promedio final de 88 mg/kg Pb, incrementándose 33.5 mg/kg Pb durante la investigación.

Palabras clave: Biorremediación, Hidrocarburos totales de petróleo, Plomo.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



ABSTRACT

In the present investigation we evaluated the effect of organic matter (Compost) and Biosurfactant (Humic Acid) for the bioremediation of sediments contaminated with hydrocarbons of the Fuel Service Station of the Guarumales - Hidroeléctrica Mazar - CELEC EP - Ecuador camp. These sediments are the result of the progressive deterioration in the underground tanks of the Guarumales camp's service station, which have caused gasoline percolations to the surface of the site.

For the development of the bioremediation process using the compost technique, 4 treatments (T1, T3, T5, T7) were proposed with their respective repetition T2(RepetitionT1), T4(RepetitionT3), T6(RepetitionT5) y T8(RepetitionT7). The investigation also has two plots will serve as witness. The treatments have high and low doses of surfactant, and organic matter.

This research started with an average value of 21958 mg/kg HTP and presents a final concentration average value of 2423.50 mg/kg HTP, reducing 19534.50 mg/kg HTP with T1 (Organic Matter 6 lb + Surfactant 4 lb), being the most efficient treatment with 88.96% during the investigation. In the other hand, concentrations of Pb started with an average value of 54.50 mg/kg Pb and shows a final concentration average value of 69.50 mg/kg Pb, increasing 15 mg/kg Pb with T1, being the less efficient treatment during the investigation.

In the control plots, HTP's concentrations shows a final concentration average value of 6747.50 mg/kg, reducing 15210.50 mg/kg HTP during the investigation; however, Pb's results show a final concentration average value of 88 mg/kg Pb, increasing 33.50 mg/kg Pb during all the investigation.

Key words: Bioremediation, Total petroleum hydrocarbons, Lead.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	4
ÍNDICE DE TABLAS	8
DEDICATORIA.....	14
AGRADECIMIENTOS	15
CAPÍTULO I	18
1.1 INTRODUCCIÓN	18
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	20
1.4 OBJETIVOS.....	21
1.4.1 Objetivo General:	21
1.4.2 Objetivos Específicos:.....	22
CAPÍTULO 2	23
MARCO TEÓRICO	23
2.1 PETRÓLEO	23
2.1.1 Origen del Petróleo	23
2.2 BIORREMEDIACIÓN.....	24
2.2.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA BIORREMEDIACIÓN.....	25
2.2.2 TIPOS DE BIORREMEDIACIÓN	26
2.2.2.1 ATENUACIÓN NATURAL.....	26
2.3 TECNOLOGÍA EX SITU	27
2.3.1 TECNOLOGÍAS	28
2.3.1.1 Landfarming.....	28
2.3.1.2 Biopilas	28
2.3.1.3 Biosuspensión.....	29
2.4 FITORREMEDIACIÓN.....	29
2.5 COMPOST.....	30

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



2.6 TECNOLOGÍAS IN SITU	30
2.6.1 Bioestimulación.....	30
2.6.2 Bioaireación	31
2.6.3 Bioaumentación	31
2.7 HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO	32
2.7.1 Efectos de la contaminación en la salud y medio ambiente por hidrocarburos.....	33
2.8 METALES PESADOS.....	34
2.8.1 Emisiones de metales pesados	35
2.9 PLOMO.....	35
2.10 FUNDAMENTO BIOQUÍMICO DE LA BIODEGRADACIÓN.....	37
2.11 SURFACTANTES	39
2.11.1 Surfactantes en Procesos de Remediación	39
2.11.2 Ácido Húmico.....	40
CAPÍTULO 3	41
MATERIALES Y MÉTODOS	41
3.1 UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	41
3.2 LUGAR EXPERIMENTAL.....	43
3.3 ADECUACIÓN DE SUSTRATO PREVIO A TRATAMIENTOS.....	45
3.4 DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS	49
3.4 TRATAMIENTOS.....	49
3.4.1 Factores.....	50
3.4.2 Niveles	50
3.4.3 Variables de respuesta	51
3.4.4 Variables de control	51
3.5 APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS	52
3.6 PARÁMETROS DE CONTROL	53
3.7 PARÁMETROS DE MEDICIÓN	54
3.8 ANÁLISIS DE MUESTRA (LABORATORIO)	55
3.9 MÉTODOS.....	56
3.9.1 Textura, método del hidrómetro (EIJKELKAMP).....	56



3.9.2 Determinación de pH	61
3.9.3 Determinación de contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad).....	62
3.9.4 Bacterias de la zona	64
3.9.5 Conteo de microorganismos mesófilos aerobios	65
3.9.6 Temperatura	68
3.10 DISEÑO ESTADÍSTICO	68
3.10.1 Modelo matemático.....	68
CAPÍTULO 4	70
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	70
4.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LAS MUESTRAS.....	70
4.2 TEMPERATURA.....	71
4.3 pH	73
4.4 HUMEDAD.....	75
4.5 MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS.....	76
4.6 HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO	77
4.7 PLOMO	79
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO de los datos.....	81
4.8.1 HTP datos al tercer mes (HTP1).....	81
4.8.2 HTP datos al sexto mes (HTP2)	85
4.8.3 Eficiencia de los tratamientos durante la biorremediación de HTP	87
4.8.4 Plomo datos al tercer mes (Pb1).....	88
4.8.5 Plomo datos al sexto mes (Pb2)	92
CAPÍTULO 5	95
CONCLUSIONES	95
RECOMENDACIONES	96
CAPÍTULO 6	97
BIBLIOGRAFÍA	97
ANEXOS	108



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Metodologías de Biorremediación.....	26
Figura 2: Ubicación del área de estudio.....	42
Figura 3: Área contaminada con hidrocarburos.	43
Figura 4: Ubicación del vivero para la fase experimental.....	44
Figura 5: Vivero.....	45
Figura 6: Esquema de la grilla de muestreo.....	46
Figura 7: Homogenización del suelo.	47
Figura 8: Método de roleo y cuarteo.	48
Figura 9: Diseño de parcela.	48
Figura 10: Distribución de parcelas experimentales.....	49
Figura 11: Proceso de aireación manual y aplicación de agua.	53
Figura 12: Muestras selladas y etiquetadas.....	55
Figura 13: Proceso de pesaje de Hexametafostato de sodio a 4%.....	57
Figura 14: Mezcla de solución.....	58
Figura 15: Equilibrio térmico del cilindro de sedimentación.	59
Figura 16: Determinación del pH.....	62
Figura 17: Proceso de secado de muestras.....	63
Figura 18: Limpieza de materiales y preparación de agar.	66
Figura 19: Preparación de diluciones.....	67
Figura 20: Comportamiento de la temperatura.....	72
Figura 21: Comportamiento de pH.	74
Figura 22: Comportamiento de la Humedad.	75
Figura 23: Comportamiento de los microorganismos aerobios mesófilos.	77
Figura 24: Comportamiento de los HTP durante la investigación.	78
Figura 25: Comportamiento del Pb.	80
Figura 26: Prueba de normalidad.....	82
Figura 27: Diagrama de Pareto.....	83
Figura 28: Gráfica de interacciones.	84
Figura 29: Diagrama de Pareto.....	85
Figura 30: Gráfica de interacciones.	86
Figura 31: Eficiencia de HTP.....	88
Figura 32: Prueba de normalidad.....	89
Figura 33: Diagrama de Pareto.....	90
Figura 34: Gráfica de interacciones.	91
Figura 35: Diagrama de Pareto.....	92
Figura 36: Gráfica de interacciones.	93



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.Ventajas y desventajas de la biorremediación.	25
Tabla 2: Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación in situ y ex situ.	27
Tabla 3.Reacciones en procesos de degradación aerobia y anaerobia.	37
Tabla 4: Coordenadas Geográficas del sitio recuperado.	43
Tabla 5: Tratamientos experimentales.	51
Tabla 6: Parámetros de Control.	53
Tabla 7: Parámetros de medición.	54
Tabla 8: Resultados iniciales de los tratamientos.	70
Tabla 9: Comparación de resultados HTP con la normativa.	79
Tabla 10: Comparación de resultados Pb con la normativa.	80
Tabla 11: Tabla de Anova.	84
Tabla 12: Tabla de Anova.	87
Tabla 13: Tabla de Anova.	91
Tabla 14: Tabla de Anova.	94

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Resultados Temperatura.	108
Anexo B: Resultados de pH.	108
Anexo C: Resultados de % Humedad.	109
Anexo D: Resultados conteo de microorganismos.	109
Anexo E: Resultados de HTP.	110
Anexo F: Resultados de Plomo.	110
Anexo G: Valores Mensual Promedio de HTP.	111
Anexo H: Valores Promedio Plomo.	112
Anexo I: Valores promedio de Temperatura durante la investigación.	113
Anexo J: Valores promedio de pH durante la investigación.	113
Anexo K: Valores Promedio de % Humedad durante la investigación.	113
Anexo L: Valores promedio de conteo de microorganismos durante la investigación.	114
Anexo M: Aleatorización de corridas.	114
Anexo 1: Reporte climatológico de la región Azuay.	115
Anexo 2: Resultados Línea Base.	115

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Anexo 3: Resultados 3 meses.....	116
Anexo 4: Resultados 6 meses.....	119
Anexo 5: Límites permisibles.	121
Anexo 6: Límites permisibles.	122
Anexo 7: Hoja de seguridad de Ácido Húmico 75%.	122
Anexo 8: Hoja de características de Ácido Húmico 75%.	125
Anexo 9: Traslado de muestra contaminada.....	127
Anexo 10: Construcción de vivero.....	128
Anexo 11: Homogenización del sedimento contaminado.....	128
Anexo 12: Análisis de muestras.	129
Anexo 13: Vivero.....	129



Universidad de Cuenca
Cláusula de derechos de autor

Jorge Patricio Mendoza Siguencia, autor del Trabajo de Titulación "Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales-CELEC", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Ingeniero Ambiental. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 17 de Abril de 2017

Jorge Patricio Mendoza Siguencia

C.I: 0104896758



Universidad de Cuenca
Cláusula de derechos de autor

Carlos Santiago Flores Barreto, autor del Trabajo de Titulación "Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales-CELEC", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Ingeniero Ambiental. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 17 de Abril de 2017

Carlos Santiago Flores Barreto

C.I: 0104512249



Universidad de Cuenca



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Jorge Patricio Mendoza Siguencia, autor del Trabajo de Titulación "Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales-CELEC", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 17 de Abril de 2017

Jorge Patricio Mendoza Siguencia

C.I.: 0104896758

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Universidad de Cuenca



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Carlos Santiago Flores Barreto, autor del Trabajo de Titulación "Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales-CELEC", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 17 de Abril de 2017

Carlos Santiago Flores Barreto

C.I: 0104512249

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



DEDICATORIA

Nuestro trabajo va dedicado a:

Nuestros seres queridos:

Nuestros padres Carlos y Patricia, Jorge y Ana

Nuestros hermanos Gabriela y Paola,

Walter, Anabel y Cristian.

Nuestros abuelos y a nuestros familiares, estas personas

que hacen hincapié en nuestras constantes

mejoras como personas, especialmente a partir de las enseñanzas que nos

pueden ofrecer desde sus experiencias de vida.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Cuenca y a la Facultad de Ciencia Químicas, de manera exclusiva a nuestro Director de Tesis, Ing. Marco Ramírez que instaló su confianza, tiempo y dedicación para que nuestra investigación vaya por su mejor curso.

A la Corporación Hidroeléctrica del Ecuador CELEC EP de manera exclusiva al Ing. Pedro Alvarado, por darnos la confianza y abrirnos las puertas a nuestra propuesta investigativa.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Jorge Mendoza S

Tienes lo que tienes, lo que hagas con eso hace la diferencia.

La vida universitaria fue uno de los capítulos más hermosos de mi vida con muchas experiencias, lugares y personas que nunca olvidaré.

Existen muchas cosas por las que agradecer. Empezando por lo más importante en mi vida mi madre Ana Siguencia que desde el principio de la universidad decía a todos que me graduaría por ella y lo he logrado, sí por ella por sus enseñanzas, por su motivación, por su comprensión, por todo su apoyo en cualesquiera de las actividades que quisiera hacer y sobre todo por su amor. A mi padre Jorge Mendoza porque del aprendí que uno de los valores más importantes en la vida es la humildad. A mis hermanos Walter, Cristian, Anabel con los que compartí juegos, viajes, fiestas y que me ayudaron con problemas personales y académicos toda mi vida.

A mi perrito Diego mi mejor amigo, mi hermano que me acompañó toda mi vida universitaria siempre a mi lado porque era el primero y el ultimo al que veía cada día, el que con tan solo un abrazo me quitaba todo el estrés con el que cargaba.

A mis amigos “malcriaditos” que cada uno con sus personalidades y ocurrencias hicieron divertida la vida universitaria, con los cuales compartí realmente buenos momentos.

Al final solo resta agradecer a todas las personas con las que empecé y termine esta aventura llamada universidad.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Santiago Flores B

Al fin acabar la “U”, me llena de nostalgia y a la vez de incomprensible emoción de ya terminar este largo proceso educativo, dejando muchas enseñanzas que servirán para mi vida personal y profesional. Pensé en algún momento que no podría acabar este proyecto al tener muchas cosas en la mente que dificultaban y me alejaban de este proyecto, pero al verme ya alcanzando una meta más en mi vida aliento a todas las personas a nunca rendirse, a seguir adelante no importa que y lo más importante siempre sonreír.

Agradezco a mi familia, a mi abuelita, a mis hermanas, a mi padre que siempre me apoyó y en especial para ti mamita por ser mi balaustre, por ser mi norte y mi sostén emocional hacía el avance de mi desarrollo profesional, por el tenaz acompañamiento que siempre has estado preparada para ayudarme sólo por quererme tanto y por desear que la vida siempre me sonría.

A todos mis amigos que convivimos experiencias que nunca saldrán de mi mente. Extrañare tantas risas, sustos, peleas, borracheras y todo lo vivido en mi vida universitaria.

Muchas gracias a aquellas personas que estuvieron presentes en este largo periodo educativo, siempre las guardaré en mi corazón.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La alteración del suelo debido a la incorporación antropogénica de sustancias ajenas a la composición natural del suelo es uno de los temas de estudio con más énfasis en la actualidad por los diferentes problemas ambientales y la amenaza real en la salud pública que ha causado (Martín, 2003).

En el Ecuador la contaminación más habitual de hidrocarburos en el suelo son las provenientes de instalaciones fijas relacionadas con la extracción y destilería de petróleo, disposición final de sus diferentes derivados en los tanques subterráneos de estaciones de servicio y actividades de despacho alcanzando a causar daños irreversibles en el suelo, agua y biota (Becerra et al., 2013). Ante esta realidad que enfrenta los diferentes países petroleros se ve la necesidad de buscar alternativas efectivas, innovadoras y de un menor costo a las técnicas tradicionales ya establecidas en el mercado para contrarrestar la contaminación de hidrocarburos en el suelo y a su vez crear medidas preventivas y de control (Coria, 2007).

Los hidrocarburos en el suelo ocasiona cambios tanto en las propiedades físicas como en las propiedades químicas que dependiendo del tipo y cantidad vertida del hidrocarburo, además de la temperatura, textura del suelo y humedad hacen que los procesos sean más o menos lentos, lo que conlleva a un grado mayor de toxicidad (de Mesa et al., 2006). Esto hace que sea un contaminante persistente y difícil de remediar y más aún si se lo deja a su ritmo natural, por lo que las técnicas de remediación¹ constituyen una opción para eliminar o disminuir su grado de contaminación inicial; estas técnicas de remediación pueden ser biológicas, térmicas y fisicoquímicas (Volke Sepúlveda et al., 2004).

¹ Aplicación de técnicas o estrategias físico químicas para evitar el daño y contaminación (Volke Sepúlveda et al., 2004).



El progresivo deterioro en las instalaciones de los tanques subterráneos de la estación de servicio del campamento de Guarumales en la Hidroeléctrica Mazar ha causado percolaciones² de gasolina hacia la superficie del lugar por lo que la empresa CELEC EP se decide a realizar trabajos basados en la Legislación Ambiental, mediante técnicas de biorremediación y enfocándose en la investigación de nuevos tratamientos que ayuden a mejorar los resultados de esta técnica aplicable para este fin.

Hoy en día la técnica de biorremediación en fase solida (composteo) es una de las tecnologías innovadoras y de bajo costo de operación la cual utiliza organismos vivos para eliminar, remover o transformar compuestos tóxicos en productos metabólicos inocuos o productos de menor toxicidad (Delgado et al., 2009).

Se puede optimizar los resultados de la técnica de biorremediación en fase solida añadiendo al tratamiento un catalizador (biosurfactante) que ayuda a mejorar la pseudosolubilización³ y dispersión de las moléculas del contaminante (González et al., 2010).

El campamento de Guarumales tiene un gran potencial para la ejecución de esta tecnología, gracias a que se produce considerables cantidades de residuos orgánicos por el restaurant del lugar y a su vez se cuenta con una compostera de donde se puede extraer biomasa constante para utilizar en el proceso de biorremediación en fase sólida.

HIPÓTESIS:

La aplicación de los diferentes tratamientos propuestos para la biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos disminuye la concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y metales pesados en el suelo de forma detectable después de 6 meses desde su primera aplicación.

² Movimiento lento de un medio líquido a través de un medio poroso (Bollobás et al., 2006).

³ Capacidad de dividir sustancias liquidas en más pequeñas de modo que puedan atravesar un medio poroso (González et al., 2010).



1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el campamento Guarumales perteneciente a la Hidroeléctrica Mazar existe un deterioro permanente en la calidad del suelo, debido a la presencia de percolaciones de Hidrocarburos y metales pesados hacia la superficie por causa del deterioro de los tanques de almacenamiento de gasolina en la estación de servicio del lugar.

Recuperar el suelo una vez que éste ha sido contaminado con petróleo y productos petroquímicos (mezclas complejas de hidrocarburos) es un proceso lento si se lo deja sólo a su ritmo natural (Corona et al., 2005), a su vez los hidrocarburos que permanecen en la superficie del suelo pueden ser acarreados por la agua lluvia y llegar hasta los ríos o puede infiltrarse en el suelo hasta alcanzar el nivel freático⁴ y convertirse en un problema mayor e incrementar los costos y tiempo de remediación iniciales.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Esto ocasiona que se vuelva una prioridad por parte de CELEC EP implementar medidas para controlar y mitigar el deterioro y contaminación del suelo por este tipo de contaminantes por medio de un tratamiento a bajo costo, con rapidez y mayor efectividad.

Un buen método para alcanzar esta degradación del contaminante es la biorremediación que utilizan los microorganismos autóctonos y también con la adición de desechos domésticos, alimenticios, agrícolas (estiércoles), que pueden ser obtenidos del mismo lugar, esto se lo conoce como (compost), todo esto en condiciones favorables para el desarrollo de los procesos de biodegradación de los contaminantes, para degradar sustancias peligrosas en

⁴ Nivel superior de un acuífero en general (Ritzema, 1994).



sustancias de carácter menos tóxico para el medio ambiente y la salud humana (Anza et al., 2016).

La empresa CELEC EP, tiene como objetivo la conservación del recurso suelo en el campamento de Guarumales, como una estrategia básica para un manejo sustentable de este recurso. Por esto la empresa decide recuperar las condiciones naturales del suelo que se ve altamente contaminada por los hidrocarburos provenientes de la gasolinera del lugar, realizando una identificación de la situación actual del lugar, aportando de esta manera con el levantamiento de información para el desarrollo de futuras investigaciones, programas y proyectos.

El aporte de la presente investigación es identificar, mediante el análisis estadístico de los resultados de entre los 4 tratamientos propuestos, cual es el más idóneo económicamente, en cuanto al grado de degradación del contaminante alcanzado, y en el menor periodo de tiempo.

Los resultados obtenidos permitirán identificar y determinar el diagnóstico actual de este suelo, el mejor tratamiento para ser aplicado, en todos los suelos degradados por este tipo de contaminante. Estos resultados se entregarán a la empresa CELEC EP (encargada de la gestión y administración del recurso), una herramienta de gestión útil en su proceso de toma de decisiones.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General:

- Determinar mediante el análisis estadístico de los resultados, cuál es el tratamiento más idóneo para alcanzar la mayor biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos.



1.4.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la contaminación fisicoquímica actual de los suelos, comparándola con la normativa ambiental vigente.
- Analizar los resultados de los parámetros físico y químicos de los diferentes tratamientos.
- Identificar el tratamiento con mejor resultados de biorremediación.



CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 PETRÓLEO

El petróleo es un líquido aceitoso oscuro, y de olor fuerte que está formado por una mezcla de hidrocarburos primarios como carbono e hidrogeno y en menor cantidad de otros elementos como nitrógeno, oxígeno, azufre o trazas de metales que dependerá del lugar de origen. En la actualidad el petróleo es la fuente energética más grande e importante del mundo y a su vez es utilizado en diversos procesos industriales como materia prima (Pardo et al., 2004).

2.1.1 Origen del Petróleo

El origen del petróleo es debido a una serie de transformaciones producidas en el subsuelo por la acumulación y descomposición de materia orgánica como restos de plantas y animales en la tierra y grandes cantidades de plancton en el mar, durante el proceso de sedimentación; estas transformaciones llevan el nombre de maduración y son causadas por el incremento de temperatura y de la presión como consecuencia del gradiente geotérmico⁵, o también por la presencia de fuentes locales de calor (Schroeder et al., 1999).

⁵ Es el aumento de temperatura que incrementa su valor con la profundidad de la corteza terrestre (World Meteorological Organization, 2008).



2.2 BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación consiste en utilizar la habilidad de los diferentes microorganismos (levaduras, enzimas, bacterias, hongos) que pueden ser naturales o mejorados genéticamente para aumentar en los contaminantes su tasa de degradación natural para luego descomponer y degradar las sustancias peligrosas en otras menos tóxicas, recuperando los sitios contaminados y consiguiendo un suelo apto para la agricultura (Rodríguez, 2003).

Algunos microorganismos obtienen los nutrientes y la energía que necesitan para desarrollarse al descomponer los diferentes contaminantes consiguiendo como resultado de esta descomposición dióxido de carbono y agua, al terminarse su fuente de alimento la población microbiana disminuye hasta desaparecer.

La biorremediación ha obtenido sus mejores rendimientos en procesos de descontaminación de hidrocarburos, pero puede tratar otros tipos de contaminantes como (herbicidas, pesticidas, hidrocarburos clorados como PCBs, PCE, TE y compuestos nitro aromáticos como el TNT (Araujo et al., 2004).

La aplicabilidad de la biorremediación es muy amplia, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia:

Líquido: Aguas residuales, superficiales y subterráneas.

Sólido: Aplicabilidad en medios contaminados como suelos o sedimentos, o directamente en lodos, residuos, etc.

Gases: Emisiones industriales, etc (Pérez-Hidalgo et al., 2004).



2.2.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA BIORREMEDIACIÓN.

En la tabla #1, se identifica las ventajas y desventajas de la biorremediación.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la biorremediación.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none">• Posibilidad de aplicarse in situ o ex situ.• Apenas se generan residuos.• No requiere de equipamientos especializados para su aplicación.• Alta tasa de degradación.• Amplio rango de aplicabilidad.• Destrucción de contaminantes.• No destrucción del suelo.• No existe incremento de volumen para el caso de suelos moderadamente contaminados.• Bajo costo de aplicación en términos comparativos.• Posibilidad de recuperar el suelo contaminado.	<ul style="list-style-type: none">• El tiempo necesario para la actuación es largo.• Es aplicable casi solo a compuestos biodegradables.• Es difícil predecir el tiempo de requerido para un proceso adecuado.• Se requiere información específica del lugar y del tipo de vertido para optimizar sus resultados.

Fuente:(Di Paola et al., 2010).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

2.2.2 TIPOS DE BIORREMEDIACIÓN

La Biorremediación según las características y necesidades del problema a tratar se subdivide en varias metodologías. Ver en la figura 1.

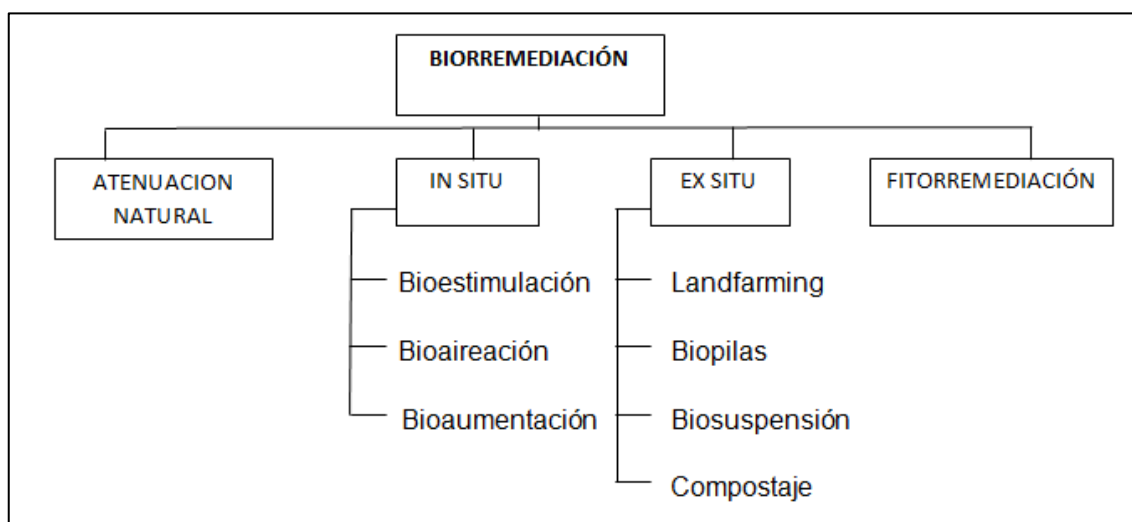


Figura 1: Metodologías de Biorremediación.

Fuente: (Volke Sepúlveda et al., 2000)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

2.2.2.1 ATENUACIÓN NATURAL

La atenuación natural o "biodegradación intrínseca" es una técnica de remediación pasiva que se basa en la utilización de los procesos físico-químicos que se origina entre el suelo y el contaminante de manera natural. Esta técnica in situ está propuesta como una práctica "costo-efectiva" óptima de bajo riesgo (Romaniuk et al., 2007), disminuye la concentración del contaminante mediante dilución, volatilización, dispersión y biodegradación; los resultados dependerán de la existencia o carencia de oxígeno disuelto,



nutrientes, microorganismos degradadores adecuados y de la biodisponibilidad del contaminante (Gómez et al., 2009).

2.3 TECNOLOGÍA EX SITU

Es la utilización de las diferentes tecnologías en donde es necesario el dragado, excavación o cualquier otro proceso para trasladar el suelo contaminado para su posterior tratamiento.

En la tabla #2, se presenta un resumen de las ventajas y desventajas de ambos tipos de tecnología.

Tabla 2: Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación in situ y ex situ.

	In situ	Ex situ
Ventajas	Permiten tratar el suelo sin necesidad de excavar ni transportar. Potencial disminución en costos.	Menor tiempo de tratamiento. Más seguros en cuanto a uniformidad: es posible homogeneizar y muestrear periódicamente.
Desventajas	Mayores tiempos de tratamiento. Pueden ser inseguros en cuanto a uniformidad: heterogeneidad en las características del suelo. Dificultad para verificar la eficacia del proceso.	Necesidad de excavar el suelo. Aumento en costos e ingeniería para equipos. Debe considerarse la manipulación del material y la posible exposición al contaminante.

Fuente: (Volke Sepúlveda et al., 2004).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



2.3.1 TECNOLOGÍAS

2.3.1.1 Landfarming

Landfarming o tratamiento superficial en tierra es una técnica utilizada para el tratamiento y la reducción de hidrocarburos, sustancias oleosas y fangos aceitosos procedentes de refinerías. Esta técnica aprovecha la capacidad de biodegradación del contaminante y lo dispersa sobre la superficie de un terreno dispuesto para este fin. El Landfarming ha tratado con éxito suelos contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs), diesel, aceites, preservantes de madera y algunos pesticidas; con menos eficacia al tratar petróleos pesados, compuestos nitrogenados y clorados. El resultado de este tratamiento por parte de los microorganismos son materiales inocuos⁶, o subproductos inofensivos para el medio ambiente (Del Río et al., 2009).

2.3.1.2 Biopilas

Las biopilas a tratar son formadas por suelo contaminado con hidrocarburos y materia orgánica (compost), para disminuir las concentraciones del contaminante en el suelo mediante la biodegradación. Este es un proceso biológico controlado debido a que se estimula a la actividad microbiana nativa mediante la aireación, adición de nutrientes y agua, para optimizar los procesos naturales de la biodegradación del contaminante. Existen varios factores que influyen en el desarrollo de esta técnica como: el clima, la geología, hidrología, el tipo de contaminante, factores espacio temporales y la ecología microbiana. El sistema de biopilas está formado por geo membranas,

⁶ Materiales destinados al consumo humano (ISO, 2005).



sistemas de aireación y sistemas de recolección de lixiviados⁷. Las biopilas se han utilizado para tratar hidrocarburos y COVs no halogenados (Sámano Tirado et al., 2015).

2.3.1.3 Biosuspensión

La biosuspensión también conocido como sistema de birreactor en suspensión es el tratamiento mediante el cual el suelo excavado es introducido en un reactor para biotransformar de forma controlada los compuestos refractarios. En el reactor se adiciona agua, nutrientes y un cultivo microbiano de actividad hidrocarburo lítica que sirve como inóculo para llevar a cabo la degradación, aquí se realizan una sucesión de reacciones biológicas generadas por los microorganismos. El resultado de este tratamiento es un sedimento que puede ser regresado a su lugar de origen y líquidos que son tratados como aguas residuales. Este método trata sólidos en suspensión, materiales flotantes, materiales inorgánicos solubles, materiales volátiles y materiales peligrosos solubles (Cuadros et al., 2005).

2.4 FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación es una ecotecnología sustentable que aprovecha la capacidad de algunas plantas para metabolizar, absorber, estabilizar, acumular, o volatilizar contaminantes orgánicos e inorgánicos que se encuentran en el suelo, agua e incluso en el aire, mediante procesos bioquímicos. La fitorremediación abarca una serie de fitotecnologías como:

⁷ Líquido sobrante, resultante de proceso de percolación de un medio líquido a través de un medio sólido (Robinson et al., 2004).



Fitovolatilización, Fitoextracción, Fitoestabilización, etc. Estas fitotecnologías otorgan ventajas con relación a otras tecnologías como menor coste económico, amplia aplicabilidad y ambientalmente más aceptable (Delgadillo-López et al., 2011).

2.5 COMPOST

El compostaje es un proceso aerobio que se realiza bajo condiciones controladas donde los residuos orgánicos biodegradables se descomponen mediante una oxidación bioquímica de bacterias, hongos, lombrices, ácaros, insectos, generando energía calórica, CO₂, H₂O y materia orgánica estabilizada o compost. Este producto final es uno de los mejores abonos orgánicos que puede ser utilizado ya sea como componente base para la elaboración de sustratos especializados de uso agrícola o como acondicionador de suelos (Varnero et al., 2007).

2.6 TECNOLOGÍAS IN SITU

Hace referencia al poder tratar el suelo contaminado sin la necesidad de excavar o trasladar el suelo hacia otro lugar.

2.6.1 Bioestimulación

La bioestimulación o biorremediación acelerada es el procedimiento más empleado para disminuir la carga de contaminantes en el suelo. Esta técnica adiciona mediante la perforación de pozos, microorganismos o soluciones acuosas que tienen una gran cantidad de nutrientes como fósforo y nitrógeno



para estimular la actividad natural de los microorganismos y optimizar la biodegradación de los contaminantes orgánicos e inmovilizar los contaminantes inorgánicos. Esta técnica se puede dar en condiciones aerobias o anaerobias, y se ha usado con gran éxito en tratamientos de lodos, suelos y aguas subterráneas contaminados con pesticidas, hidrocarburos, derivados de petróleo, disolventes y otras sustancias químicas orgánicas (Vallejo et al., 2005).

2.6.2 Bioaireación

La bioaireación o bioventeo se fundamenta en la inyección forzada in situ de aire y oxígeno en el suelo a través de pozos de inyección para estimular la biodegradación natural aeróbica del contaminante de forma pasiva y a su vez la acción microbiana, debido a que volatiliza y facilita el traslado de los contaminantes y oxigena a los microorganismos. Esta técnica es aplicable para suelos orgánicos no volátiles o semi volátiles que se encuentren contaminados con: tolueno, acetona, naftaleno, hidrocarburos de petróleo o mezclas de hidrocarburos aromáticos polinucleares (PAH) (Cuadros et al., 2005).

2.6.3 Bioaumentación

La técnica de bioaumentación, hace referencia a la adición externa de microorganismos exógenos degradadores para aumentar el alcance y la tasa de la biodegradación (Rodríguez et al., 2012). Esta técnica es aplicable cuando existen insuficientes microorganismos en la microflora dedicadas a degradar los contaminantes. El éxito de la bioaumentación dependerá de la interrelación de los microorganismos inoculados con su nuevo entorno biótico y

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



de elementos ambientales, en cuanto a migración y supervivencia. Se ha tratado con éxito suelos contaminados con herbicidas, insecticidas y desechos contaminados con metales (Martínez et al., 2012).

2.7 HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO

Los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) también llamados hidrocarburos, son una mezcla de productos químicos orgánicos principalmente compuestos de átomos de carbono tetravalentes y átomos de hidrogeno monovalentes derivados originalmente del petróleo crudo.

TPH se define como la cantidad medible de hidrocarburos a base de petróleo en un medio ambiental. Este es, entonces, dependiente del análisis del medio en el cual este es encontrado. Debido a que esta es una cantidad medida a groso modo y carece de la identificación de sus componentes, el valor de TPH todavía representa una mezcla. De este modo, TPH no representa en sí mismo un indicador directo del riesgo para los humanos o el medio ambiente.

El valor de TPH puede ser el resultado de muchos métodos analíticos, algunos de los cuales han sido utilizados por décadas y otros se han desarrollado en años recientes. Los métodos analíticos están evolucionando en respuesta a las necesidades de los asesores de riesgo.

Existen varios cientos de químicos de hidrocarburo individuales definidos a base de petróleo, con más de 250 componentes de petróleo identificados. Los TPH envuelven varias sustancias químicas como el benceno, tolueno, xilenos, hexano, aceites minerales, combustibles y fluoreno; así como también otros productos derivados de petróleo. Sin embargo, es probable que muestras de TPH contengan solamente algunas, o una mezcla de estas sustancias químicas (ATSDR, 2016).



Más aún, cada producto a base de petróleo posee su propia mezcla de constituyentes. Una razón para esto, es que el crudo de petróleo, varía en su composición. Algunas de estas variaciones son reflejadas producto de petróleo final. El crudo de petróleo puede ser ampliamente dividido en querosén, alquitrán y aceite de crudo mezclado. En el caso del querosén este se encuentra constituido por parafinas, las cuales permiten elaborar cera. Crudos de alquitrán contienen una amplia concentración de ciclo alifático y aceites lubricantes de gran viscosidad. Los solventes de petróleo son el resultado de la destilación del aceite de crudo.

Los productos de petróleo, en sí mismos, son la fuente de muchos de los elementos, pero no definen que es TPH. Estos ayudan a definir los hidrocarburos potenciales que llegan a ser contaminantes ambientales, pero cualquier criterio está determinado también por como el producto cambia con el uso, por la naturaleza de la descarga y por el destino ambiental del hidrocarburo (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 1999).

2.7.1 Efectos de la contaminación en la salud y medio ambiente por hidrocarburos

La contaminación ambiental producida por hidrocarburos es de gran preocupación debido a que estos compuestos resultan ser nocivos para toda forma de vida. La materia viva se halla expuesta al petróleo de diversas maneras. De hecho, productos secundarios, formados durante la refinación⁸ y procesamiento del petróleo, los cuales son utilizados para la manufactura de otros productos, resultan ser altamente tóxicos. De manera constante estos componentes tóxicos son liberados de manera inadvertida al medio ambiente.

⁸ Proceso de eliminación de impurezas para convertir una sustancia o materia a más pura (SIPG, 2015).



A pesar de que un amplio número de hidrocarburos encontrados en productos elaborados de petróleo, únicamente un número relativamente pequeño de componentes es conocido por su toxicidad. La toxicidad de moléculas de hidrocarburo y su disponibilidad para metabolismo⁹ microbiano depende de su naturaleza física y química.

El petróleo es tóxico y puede ser letal dependiendo de la naturaleza de la fracción de petróleo, la manera de exposición y el tiempo de exposición. Los químicos altamente tóxicos contenidos en el crudo de aceite pueden dañar cualquier sistema orgánico en el cuerpo humano tal como el sistema nervioso, el sistema respiratorio, el sistema circulatorio, el sistema inmunológico, el sistema reproductivo, el sistema inmune, el sistema endocrino, y consecuentemente puede provocar una amplia gama de enfermedades y desórdenes (Abha et al., 2012).

2.8 METALES PESADOS

Los metales pesados corresponden a aquellos componentes raros de la tierra, los cuales se los encuentran como elementos de transición dentro de la tabla periódica. Cuentan con una densidad mayor a 5 g/cm^3 , su concentración en sedimentos es muy baja y resultan ser tóxicos.

Los metales pesados son elementos naturales y están presentes en concentraciones variadas en todos los ecosistemas. Hay un enorme número de metales pesados. Estos pueden ser encontrados en su forma elemental y en una variedad de otros compuestos químicos. Aquellos metales pesados que son volátiles y se encuentran unidos a pequeñas partículas pueden ser ampliamente transportados en amplias cantidades. La actividad humana ha cambiado de manera drástica, los ciclos biomecánicos y el balance de algunos

⁹ Procesos microbiológicos los cuales mediante nutrientes producen energía para vivir (Benintende, 2010).



metales pesados. Los metales pesados son generados comúnmente en procesos industriales, mineras, fundidoras, incineradores de desperdicios. Entre los metales pesados que concitan mayor riesgo está el mercurio, el cadmio y el plomo, pues según la EMEP¹⁰: “estos son los más tóxicos y se conoce de serios efectos en la salud humana” (Ilyin et al., 2004).

2.8.1 Emisiones de metales pesados

Se necesita contar con información confiable que permita aplicar medidas trascendentes para reducir exposición ambiental a metales pesados. Como se manifiesta por parte de las autoridades, existen tres metales particularmente dañinos, esto son el Cadmio (Cd), plomo (Pb) y mercurio (Hg). Debido a estos eventos han impulsado iniciativas ambientales regidas por entes gubernamentales con el fin de reducir los niveles de emisión de estos metales (Ilyin et al., 2004).

2.9 PLOMO

El aspecto del color natural de plomo nuevo es un plateado metálico claro, bastante parecido a zinc natural. Expuesto a la intemperie este color pierde su brillo gradualmente, a la vez que se oscurece algo con el tiempo para acabar en un color gris metálico. El color del metal se evoluciona más despacio en fachada que en cubierta, pero al final ambos llegan a los mismos colores, tardando aproximadamente 2 años y un año respectivamente para alcanzar su estado de madurez. Respecto a los revestimientos de cubierta de los otros metales que empleamos, los del plomo no presentan las características ‘aguas’ u ondulaciones en la chapa. Esto es debido a que el plomo se asienta muy bien sobre el soporte, causa de su elevado peso y espesor, y nula resistencia

¹⁰ The European Monitoring and Evaluation Programme (EMEP, 2017).



mecánica. Esto produce una sensación visual contundente y robusta (Ministerio del Ambiente, 2006).

El plomo es un metal gris, blando y maleable que se obtiene por fundición o refinamiento de las minas o secundariamente por el reciclamiento de los materiales de desecho que contengan plomo, como por ejemplo de las baterías de los automóviles. La intoxicación por plomo ocurre luego de la exposición a este metal; este tiene muchos usos y fuentes como pueden ser baterías para autos ya mencionadas, aditivo en la gasolina, revestimiento de cables, producción de tuberías, cisternas, protección de materiales expuestos a la intemperie, fabricación de municiones, pigmentos para pinturas y barnices, fabricación de cristales, esmaltado de cerámica, litargirio, soldadura de latas, antisépticos (agua blanca de Codex). El tetraetilo y tetrametilo de plomo se utilizan como aditivos y antidetonantes de gasolinas, contribuyendo a la contaminación ambiental.

Las fundiciones de plomo, la fabricación y desarmado de baterías para autos y la industria de la cerámica constituyen la principal fuente de intoxicación laboral en nuestro medio. Antes de 1970 en Estados Unidos las pinturas contenían plomo, lo cual representó un problema grave en su momento, ya que los niños ingerían las cascarillas de pintura que se desprendían de las paredes y desarrollaban la intoxicación. La dificultad para el diagnóstico se incrementa más aún, cuando la fuente de exposición al plomo es inusual como pueden ser medicinas folclóricas, cerámica, ingestión de cuerpos extraños que contengan plomo, suplementos de calcio de hueso de animales, recipientes de plomo y balas retenidas de heridas por arma de fuego (Valdivia, 2005).



2.10 FUNDAMENTO BIOQUÍMICO DE LA BIODEGRADACIÓN

El proceso de biodegradación inicia cuando los microorganismos transforman los compuestos hidrocarburos (sustrato orgánico) los cuales son externos a la célula y actúa como fuente de electrones, de tal manera la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicha sustrato.

El fundamento bioquímico se basa en que la cadena de respiración o sucesión transportadora de electrones de las células, concibe una serie de reacciones de óxido-reducción teniendo como objetivo proveer de energía a las células, degradando así a los contaminantes.

Los aceptadores de electrones más utilizados por los microorganismos son los Sulfatos, Hierro, Oxígeno, Dióxido de Carbono y los Nitratos. Por lo que cuando se utiliza los Sulfatos o Dióxido de Carbono como receptores de electrones, la respiración microbiana se realiza en condiciones anaerobias; sin embargo, cuando el Oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias es decir en presencia del aire (Maroto Arroyo et al., 2008).

Las reacciones químicas presentes en procesos de degradación se presentan en la tabla #3.

Tabla 3. Reacciones en procesos de degradación aerobia y anaerobia.

Degradación Aerobia	Sustrato +O ₂ → Biomasa+CO ₂ +H ₂ O
Degradación Anaerobia	Sustrato +Fe (3+)→ Biomasa+CO ₂ +Fe (2+)
	Sustrato +SO ₄ (2-) → Biomasa+CO ₂ +S (2+)
	Sustrato +CO ₂ → Biomasa+CO ₂ +CH ₄
	Sustrato +Mn (4+) → Biomasa+CO ₂ +Mn (2+)
	Sustrato +NO (3-) → Biomasa+CO ₂ +N ₂

Fuente: (Maroto Arroyo et al., 2008)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



La cantidad y la constitución de la comunidad o agrupación microbiana y la tasa de eliminación de contaminantes está directamente influenciada por varios elementos como:

Estructura química del hidrocarburo: La biodegradabilidad de un hidrocarburo depende de su estructura química molecular siendo menos degradable si consta de ramificaciones, carga atómica diferente y su baja solubilidad en agua.

pH del suelo: El crecimiento de la actividad microbiana se da en los niveles de pH entre 6 y 8. Este factor afecta en el transporte de metales pesados en el suelo por ende afecta significativamente en la actividad microbiana.

Humedad: El agua actúa como medio de transporte por medio del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hacia las células. Una alta cantidad de agua afectara al crecimiento bacteriano debido que se reduciría la concentración de oxígeno en el suelo.

Nutrientes: Los nutrientes necesarios para la degradación son el fósforo y el nitrógeno. El rango normal o habitual de C: N: P es 100:10:1.

Temperatura: La temperatura óptima para el aumento del metabolismo de los microorganismos mesófilos varía entre 15 y 45 °C y decrece la remediación en temperaturas superiores a 40 °C y debajo de 0 °C (Maroto Arroyo et al., 2008).



2.11 SURFACTANTES

Los surfactantes son compuestos anfifílicos los cuales disminuyen o reducen la energía libre que se encuentra en el sistema sustituyendo las moléculas masivas de mayor energía en una interfase (Mulligan, 2004), lo que hace que sean capaces de disminuir la tensión superficial¹¹, reducir la tensión interfacial¹² y aumentar la solubilidad (Riojas et al., 2011), convirtiéndose en un buen mecanismo para remediar los suelos contaminados con hidrocarburos.

El uso de surfactantes va dirigido para el lavado del suelo debido a su capacidad para remover contaminantes. Se han utilizado industrialmente a los surfactantes como adhesivos, agentes floculantes, humectantes y espumantes, desmulsificantes¹³ y penetrantes (Mulligan, 2004).

2.11.1 Surfactantes en Procesos de Remediación

A través de la revisión de las políticas y objetivos ambientales mundiales y locales, no es difícil deducir la importancia de contar con mecanismos y técnicas económica y ambientalmente sostenibles de remediación del suelo ya que la contaminación disminuye la tierra cultivable y productividad del suelo, dificultando así el desarrollo económico sostenible.

Uno de los problemas presentados en los métodos de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos se relaciona con la naturaleza hidrofónica de los hidrocarburos, la escasa solubilidad en agua y la alta adherencia a las moléculas de suelo, razones por las cuales es necesario aumentar la

¹¹ Fuerzas moleculares diferentes, fuerza interior del líquido diferente a la superficie (Universidad de Valencia, 2006).

¹² Cuando ambos medios son líquidos (Zeppieri et al., 2009).

¹³ Causados por procesos de extracción y producción de petróleo (Sandia et al., 2011).



biodisponibilidad de los mismos para que sean más accesibles a los microorganismos encargados de su degradación (Petro et al., 2014).

Por otro lado, los surfactantes, que son moléculas anfipáticas¹⁴ que poseen la capacidad de interaccionar con compuestos hidrofóbicos e hidrofílicos, ubicándose en la interfase de los mismos. Sin embargo, el uso de surfactantes químicos agrega un contaminante extra (Bognolo, 1999), por lo que el uso de biosurfactantes solventaría este inconveniente, ya que, a diferencia de los surfactantes químicos, los biosurfactantes poseen la baja toxicidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad, son bioproductos amigables con el ambiente e igual de efectivos en la solubilización de contaminantes y al ser biodegradables los cambios en la estructura del suelo tratado son menores (Raiger et al., 2009).

2.11.2 Ácido Húmico

Los ácidos húmicos son fusiones heterogenias y de estructuras supramoleculares, las cuales se forman por descomposición de la materia orgánica. Su cantidad presente en el suelo depende de las características del mismo, a pesar de estar siempre presentes como efecto directo de la desintegración de las plantas (Nieto-Velázquez et al., 2011)

Los ácidos húmicos mejoran la calidad físico-química del suelo y también son precursores de combustibles fósiles. Solubles en medio alcalino e insolubles a $\text{pH} \leq 2$ (Perminova et al., 2005).

¹⁴ Molécula que posee un extremo soluble en agua y el otro extremo rechaza el agua (Balmori, 2008).



CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio está ubicada en el Campamento Guarumales de la empresa CELEC EP, perteneciente al cantón Sevilla de Oro de la provincia del Azuay, ver figura 2. Esta área presenta una variación altitudinal que va desde los 1 600 msnm (Guarumales) a los 3 870 msnm (Patul) con un relieve montañoso. Esta variabilidad marcada ha determinado una diversidad ambiental que se puede reflejar en la variedad de climas que van desde el frío a subcálido, y de seco a muy húmedo; los suelos predominantemente de esta zona son arcillosos con una fertilidad media a baja.

El campamento Guarumales se encuentra aproximadamente a 67 km del centro del cantón Sevilla de Oro, las vías de acceso al campamento van por la margen derecha del río Paute, y forma parte de la carretera Cuenca - Paute - Guarumales, y llega al sitio luego de pasar los cantones: Guachapala, El Pan y Sevilla de Oro. Desde Azogues se tiene otra vía por la margen izquierda del río Paute: Azogues – Matrama – Taday – Pindilig - Zhoray – Buenos Aires – Mazar (HIDROPAUTE, 2004).



Figura 2: Ubicación del área de estudio.

Fuente: INEC 2011

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

El campamento Guarumales cuenta dentro de sus instalaciones con una estación de servicio para el despacho de gasolina. En este lugar, ver figura 3, se encuentra el área contaminada (8m²) correspondiente a las coordenadas geográficas indicadas en la tabla 4, en donde se extrajo aproximadamente 4 m² para ser trasladado al lugar experimental donde se aplicará los tratamientos.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Figura 3: Área contaminada con hidrocarburos.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Tabla 4: Coordenadas Geográficas del sitio recuperado.

COORDENADAS GEOGRÁFICAS		
PUNTOS	X	Y
P1	777751	9714761
P2	777744	9714760
P3	777736	9714746
P4	777742	9714745
Punto libre de contaminación	777753	9714766
Compostera	77792	9714733

Datum WGS84

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.2 LUGAR EXPERIMENTAL

El suelo contaminado proveniente de la estación de servicio del campamento Guarumales fue trasladado hacia el lugar experimental en el cual se realizó la

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

fase de investigación, debido a que se utilizó una tecnología de remediación ex situ por menores tiempos de remediación (Volke Sepúlveda, 2004).

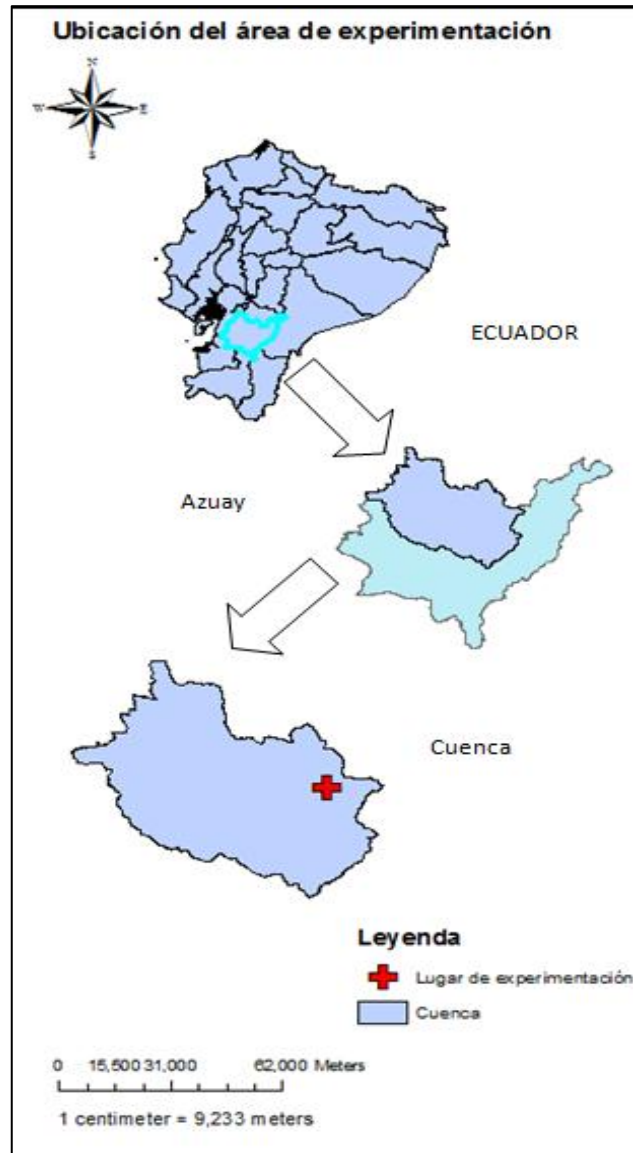


Figura 4: Ubicación del vivero para la fase experimental.

Fuente: INEC 2011

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

El lugar donde se realizó la investigación se encuentra localizada en un terreno privado ubicado al norte de la Parroquia Uncovía, Cantón Cuenca, Provincia del Azuay, en las coordenadas 723932.00 m E y 9683277.00 m S; a 2533 msnm, ver en la figura 4.

El lugar experimental consta de un vivero (9m x 5m x 2.50m) construido a base de acero (bases) y plásticos (paredes y techo) para mantener las parcelas experimentales en condiciones adecuadas (temperatura, precipitación) y aislados de vectores (insectos, roedores y plagas) y albergar las 10 parcelas con suelo contaminado durante el periodo de investigación, ver figura 5.



Figura 5: Vivero.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.3 ADECUACIÓN DE SUSTRATO PREVIO A TRATAMIENTOS

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

En el área afectada se trazó una cuadrícula extendida sobre toda el área afectada, ver figura 6, extrayendo alrededor de 50% del total del área contaminada (4m^2).

El objetivo en la toma de muestra del suelo afectado es conseguir muestras representativas que cubra toda el área contaminada por lo que se decidió aplicar el método de muestreo asistemático para la toma de muestras. Este método corresponde a un muestreo al azar, no obstante los puntos son representativos del área de muestreo (Gobierno de Chile, 2007).

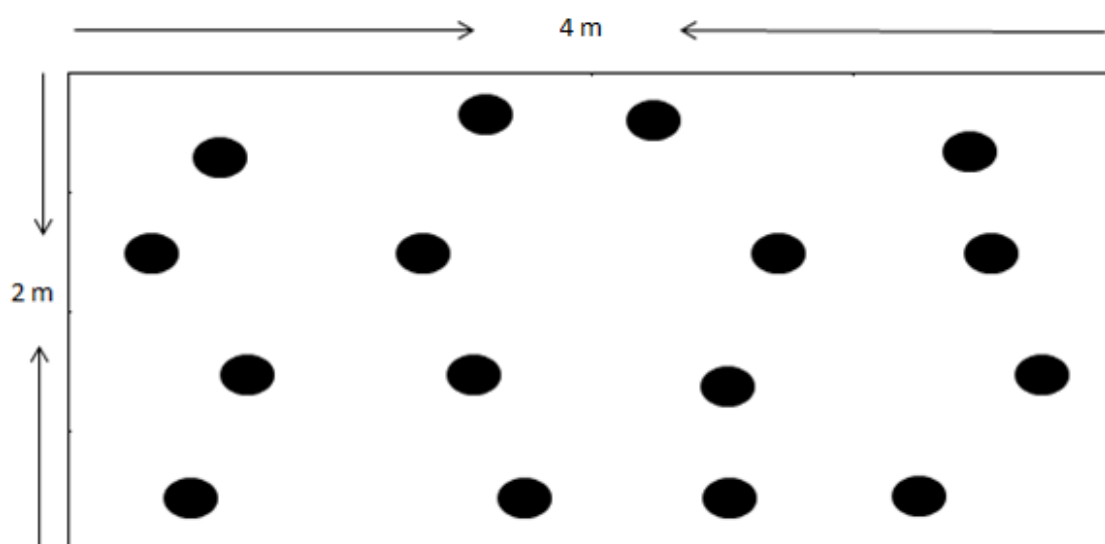


Figura 6: Esquema de la grilla de muestreo.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

La muestra total de suelo contaminado fue dividida en 2 partes debido a la dificultad de su traslado. La primera mitad fue trasladada la cuarta semana de Julio de 2016 la misma fue confinada sin acceso a humedad, ni volteo. La segunda mitad, fue trasladada la primera semana de Agosto de 2016 y colocada sobre una lona plástica junto a la primera mitad de la muestra para su

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

posterior mezcla y homogenización. En este punto (homogenización) la muestra total toma una apariencia negra o gris oscura, como se puede observar en la figura 7.



Figura 7: Homogenización del suelo.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

En este punto se tomó dos muestras del suelo contaminado el 5 de Agosto de 2016 que servirá como línea base de la investigación, ver anexo 1. La toma de muestras se realizó mediante el método de roleo y cuarteo, el cual reside en depositar sobre una lona el suelo para su mezcla y cuarteado en forma de X, donde se selecciona las dos secciones opuestas que nuevamente serán mezcladas y cuarteadas hasta dejar una muestra equivalente a 500gr, ver figura 8 (Analab, 2017).



Figura 8: Método de roleo y cuarteo.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

El total del suelo homogenizado fue distribuido equitativamente en 10 parcelas para recibir su tratamiento correspondiente.

Las parcelas fueron construidas a base de madera con una capacidad de volumen de 0.35m^3 ($1\text{m} \times 0.50\text{m} \times 0.70\text{m}$) como se indica en la figura 9.

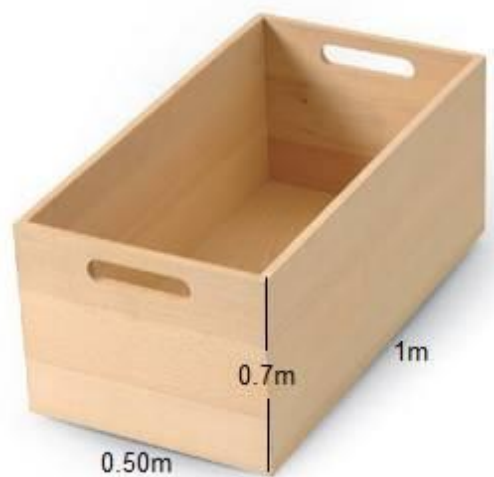


Figura 9: Diseño de parcela.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

3.4 DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS

La distribución aleatoria de las parcelas, fue realizada por el diseño factorial completa, utilizada en el programa estadístico Minitab 2017 ver anexo M. En la figura 10, se puede observar la distribución de las 10 parcelas experimentales, identificadas con sus respectivos códigos: T1, T2(T1R), T3, T4(T3R), T5, T6(T5R), T7, T8(T7R), Testigo 1 y Testigo R.

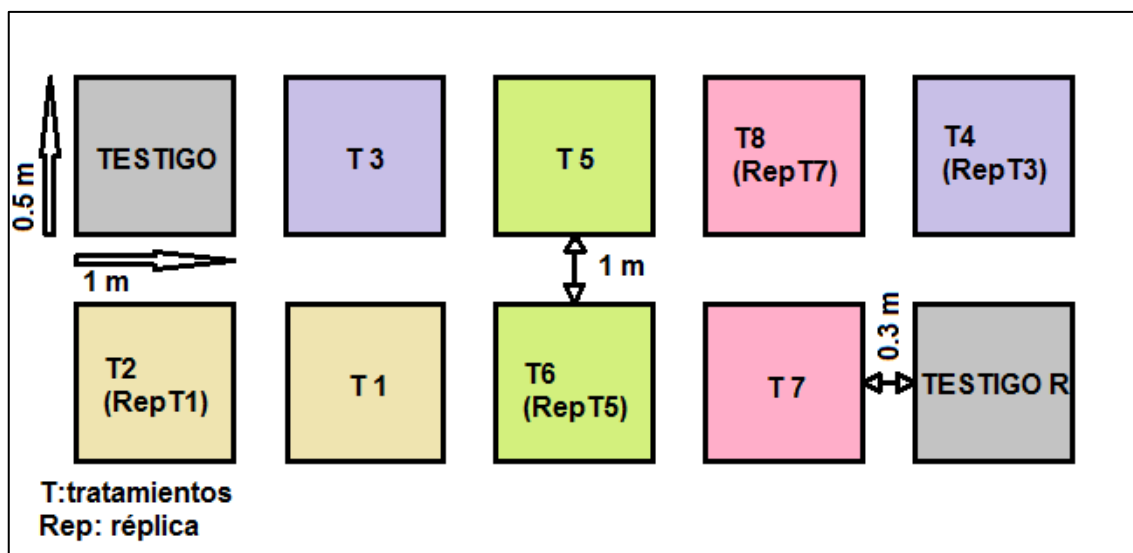


Figura 10: Distribución de parcelas experimentales.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.4 TRATAMIENTOS

La investigación llevo a cabo una valoración de una técnica biológica para suelo contaminado con hidrocarburos, se trabajó con cuatro tratamientos con

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



dos réplicas de cada uno, más dos parcelas de testigo, lo que da un total de 10 parcelas.

El número de tratamientos está dado por el diseño experimental 2^k realizado en el programa minitab donde se obtiene 4 diferentes combinaciones de tratamientos, como se puede observar en la tabla 6, los tratamientos serán aplicados a las parcelas con suelo contaminado; cada tratamiento contara con una réplica, para asegurar la homogeneidad dentro de cada población y minimizar el error experimental (Galbiati Riesco, 2005).

Este diseño experimental cuenta con dos factores y dos niveles.

3.4.1 Factores

Se consideraron 2 factores

1. A: Materia Orgánica (Compost).
2. B: Biosurfactante (Ácido Húmico).

3.4.2 Niveles

Se consideraron 2 niveles:

1. Alto
2. Bajo



3.4.3 Variables de respuesta

Para la investigación se tuvo en cuenta dos variables de respuesta:

1. Hidrocarburos totales de petróleo
2. Plomo.

3.4.4 Variables de control

Para la investigación se tuvo en cuenta cuatro (4) variables de control:

1. Presencia de Microorganismos.
2. Características Físicas (Temperatura, pH, Humedad).

Tabla 5: Tratamientos experimentales.

FACTORES	DOMINIO EXPERIMENTAL	
	Baja (-)	Alta (+)
Materia Orgánica	3 lb	6 lb
Biosurfactante	0.50 lb	4 lb
TRATAMIENTOS	COMBINACIONES DE DOSIS (S – C)	
Tratamiento 1	Materia Orgánica 6 lb + Surfactante 4 lb	
Tratamiento 2 (Réplica T1)	Materia Orgánica 6 lb + Surfactante 4 lb	
Tratamiento 3	Materia Orgánica 3 lb + Surfactante 4 lb	
Tratamiento 4 (Réplica T3)	Materia Orgánica 3 lb + Surfactante 4 lb	

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Tratamiento 5	Materia Orgánica 6 lb + Surfactante 0.50 lb
Tratamiento 6(Réplica T5)	Materia Orgánica 6 lb + Surfactante 0.50 lb
Tratamiento 7	Materia Orgánica 3 lb + Surfactante 0.50 lb
Tratamiento 8(Réplica T7)	Materia Orgánica 3 lb + Surfactante 0.50 lb

Fuente: Minitab.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.5 APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS

Las dosis correspondientes a cada tratamiento fueron aplicados cada 30 días de iniciado del proceso de biorremediación, se adicionaron las dosis correspondientes obtenidas del diseño estadístico 2² del programa Minitab 2017 a cada parcela con la finalidad de estimular la producción microbiana.

Para optimizar el proceso de biodegradación se realizó 3 visitas semanales durante toda la investigación. En cada visita se realizó aireación manual con una pala de jardinería (ver figura 11), y a su vez se aplicó 10 litros de agua (pH: neutro). A cada una de las parcelas a excepción de las parcelas testigo (Santos et al., 2009).



Figura 11: Proceso de aireación manual y aplicación de agua.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.6 PARÁMETROS DE CONTROL

Para mantener un control durante la investigación se realizó un seguimiento de los parámetros físicos, los cuales fueron medidos cada 3 meses a partir de ser ubicados los tratamientos son especificados en la tabla 6.

Tabla 6: Parámetros de Control.

ANÁLISIS	PARÁMETROS DE CONTROL	UNIDAD	MÉTODO DE ANÁLISIS	LABORATORIO
Físicos	pH	*H	pH metro	Mediciones directas en las unidades experimentales. Laboratorios del
	Temperatura	°C	Termómetro	
	Humedad	%	Método Gravimétrico	
	Textura	%	Hidrómetro	

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



				P.R.O.M.A.S- Universidad de Cuenca.
Microbiológicos	Aerobios Mesófilos	UFC/g	Siembra inoculación.	Laboratorio de microbiología de alimentos Universidad de Cuenca.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.7 PARÁMETROS DE MEDICIÓN

Los parámetros que serán medidos en todos los bloques experimentales durante la investigación, se puede observar en la tabla 7.

Tabla 7: Parámetros de medición.

ANÁLISIS	PARÁMETROS DE CONTROL	UNIDAD	MÉTODO DE ANÁLISIS	LABORATORIO
Químicos	TPH	mg/kg	EPA 8015 D / MM-S-23	GRUNTEC S.A.
	Plomo	mg/kg	EPA 6020 B / MM-AG/S-39	GRUNTEC S.A.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3.8 ANÁLISIS DE MUESTRA (LABORATORIO)

Para obtener los resultados de hidrocarburos totales de petróleo y plomo las muestras de suelo de cada tratamiento fueron puestas en fundas ziploc herméticas (ver figura 12) para evitar alteraciones en los resultados (Ministerio del Ambiente, 2014) y posteriormente etiquetadas con su respectivo código, fecha de emisión, empresa; las mismas que fueron enviadas mediante transporte terrestre hacia la ciudad de Quito en donde se encuentra el laboratorio Gruntec S.A.



Figura 12: Muestras selladas y etiquetadas.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.



3.9 MÉTODOS

3.9.1 Textura, método del hidrómetro (EIJKELKAMP)

El término textura es usado para representar la composición granulométrica del suelo, este método muestra el contenido relativo de las partículas de diferente tamaño, tales como la arcilla, limo y arena (FAO, 2017).

Este análisis se realizó en laboratorio de suelos del PROMAS de la Universidad de Cuenca.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Agua des ionizada
- Hidrómetro ASTM 152H (- 5 – 60 g/L)
- Vaso de vidrio
- Tapón para el cilindro de sedimentación
- Cronómetro
- Solución dispersante
- Termómetro
- Tamices: 2.00, 0.063 mm
- Batidora
- Alcohol Amílico

PROCEDIMIENTO

Agente dispersante: Hexametáfosfato de sodio 4%: Disolver 40 g de $(\text{NaPO}_3)_6$ en 1 litro agua. Ver en la figura 13.



Figura 13: Proceso de pesaje de Hexametafostato de sodio a 4%.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

PREPARACIÓN DEL SUELO

1. Se pesa 20 g de suelo (< 2mm)
2. Se coloca el suelo en la batidora.
3. Añadir 20 ml de agente dispersante y agregar agua hasta completar el volumen aproximado de 400 ml. Mezclar la solución en la batidora por cinco minutos, ver en la figura #14.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Figura 14: Mezcla de solución.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

SEPARACIÓN DE LA FRACCIÓN DE ARENA

Pasar la solución a través del tamiz $63\ \mu\text{m}$ (anteriormente la arcilla y limo fueron separados de la arena mediante el tamiz $50\ \mu\text{m}$).

Lavar la fracción de arena que queda en el tamiz y colocar en un recipiente a $105\ ^\circ\text{C}$ por al menos una hora para secar el material.

DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE ARENA Y ARCILLA

1. Colocar la solución $< 63\ \mu\text{m}$ en un cilindro de 1 lt y añada agua hasta completar $1000\ \text{cm}^3$ (agua común puede ser usada satisfactoriamente).

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

Para obtener el blanco, coloque 20 ml de agente dispersante y agregue agua hasta completar un volumen aproximado de 1000 ml. Ver en la figura 15.



Figura 15: Equilibrio térmico del cilindro de sedimentación.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

2. Deje que la suspensión se equilibre térmicamente en el cilindro de sedimentación por un momento y anotar la temperatura.
3. Tapar el cilindro de sedimentación con un tapón y agite bien. Al momento en que se termina la mezcla, cuidadosamente baje el hidrómetro en la suspensión y tomar una lectura cuando este esté estable, pero no más tarde que 50 segundos después de la mezcla.
4. Reinsertar el hidrómetro cuidadosamente cerca de 10 segundos antes de cada lectura.
5. Tomar lectura a los 50 segundos y 5, 120, 1440 minutos cada vez.



CÁLCULOS

1. La concentración de sedimentos en suspensión C, en g/L es:

$$C = R - R_{bl} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

R: Lectura en la solución sin corregir, g/ L

R_{bl} : Lectura en el blanco, g/L

2. El porcentaje de partículas P para un intervalo de tiempo es

$$P = 100 * \frac{C}{C_o} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

C_o : Peso total de la muestra

$C_o = C_{50s} + \text{peso total de la fracción de la arena}$

C_{50s} = Peso total de las fracciones de arena y arcilla

3. El diámetro promedio de partículas x, en μm se obtiene usando:

$$X = 1000 \sqrt{Bh'} / \sqrt{t} \quad (\text{Ec. 3})$$

$$B = 30 n / g (p_s - p_1) \quad (\text{Ec. 4})$$

$$h' = -0.164 R + 16.3 \quad (\text{Ec. 5})$$

h' : Profundidad efectiva del hidrómetro, cm

n: Viscosidad del fluido (= 100 mPa s)

g: Gravedad, 985 cm/ s²

p_s : Densidad de la particular del suelo, 2.60 gr/cm³

p_1 : Densidad de la solución, gr/cm³

t: Tiempo en minutos



3.9.2 Determinación de pH

MATERIALES Y EQUIPOS

- Phmetro marca Eijkelkamp 18.28.
- Batidora Eijkelkamp
- Horno Memmert
- Balanza electrónica Mettler Toledo.
- Tamiz de 2 mm.
- Capsulas metálicas.
- Vaso de precipitación de 250 ml.
- Cucharilla.
- Agua desmineralizada

PROCEDIMIENTO

1. Preparara una dilución 1:2.5 en volumen, para ello tomar 20 ml de suelo (< 2mm) y mezclarlo con 50 ml de agua desmineralizada.
2. Agitar la mezcla durante 5 minutos (400 rpm) y dejarla en reposo por un lapso de 30 minutos.
3. Calibrar el electrodo del antes de realizar las mediciones.
4. Colocar el electrodo en las muestras y leer los valores mostrados en la pantalla. Mientras se están realizando las lecturas agitar la dilución, ver en la figura 16.



Figura 16: Determinación del pH.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

5. Una vez concluidas las mediciones, lavar el electrodo en agua destilada y guardar en solución 3.4 M KCL.

3.9.3 Determinación de contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad)

MATERIALES Y EQUIPOS

- Horno Memmert
- Balanza electrónica Mettler Toledo.
- Capsulas y cucharilla.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

PROCEDIMIENTO

1. Pesar la muestra húmeda más la capsula que lo contenga.
2. Colocar la muestra en el horno a una temperatura de 105 °C durante 24 horas. Ver en la figura 17.



Figura 17: Proceso de secado de muestras.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3. Pesar la muestra seca más la capsula.
4. Pesar la capsula.

CÁLCULOS

La humedad gravimétrica se obtiene calculando la siguiente formula:

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



$$w = \frac{m_{sh+a} - m_{ss+a}}{m_{ss+a} - m_a} \quad (\text{Ec. 6})$$

y la humedad volumétrica:

$$\theta = \frac{V_w}{V} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$\theta = w \frac{\rho}{\rho_w} \quad (\text{Ec. 8})$$

donde:

m_{sh+a} : Masa de suelo húmedo más capsula.

m_{ss+a} : Masa de suelo seco más capsula

m_a : Masa de la capsula.

ρ : densidad aparente.

ρ_w : Densidad del agua= 1 gr/cm³.

3.9.4 Bacterias de la zona

Para la presente investigación los microorganismos no fueron manipulados genéticamente, se alcanzó una activación de los mismos mediante bioestimulación (adición de nutrientes), los cuales unos meses después de terminado el tratamiento podrán volver a sus condiciones originales y retomar su equilibrio poblacional (García et al., 2011).



3.9.5 Conteo de microorganismos mesófilos aerobios

Los microorganismos aerobios mesófilos son dependientes de oxígeno que pueden vivir a una temperatura entre 30 -37 °C y son capaces de crecer en un agar nutritivo (Ramos Vásquez et al., 2008).

Este análisis se realizó en el laboratorio de microbiología de alimentos de la Universidad de Cuenca según el método especificado en la ISO 4833.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo de protección personal
- Gasas en rollo
- Algodón
- Papel Kraft
- Alcohol antiséptico
- Alcohol industrial
- Solución salina estéril
- Agar nutritivo
- Cajas Petri
- Erlenmeyer
- Pipetas 10 ml
- Pipetas 1 ml
- Tubos tapa rosca 10 ml
- Cocineta de mesa a gas
- Mechero
- Autoclave
- Incubadora
- Balanza eléctrica

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

- Refrigerador

PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:

1. Limpieza de materiales de vidrio, ver en la figura 18.
2. Preparar el agar nutritivo, 20 gr de agar en un litro de agua destilada, luego auto clavar.



Figura 18: Limpieza de materiales y preparación de agar.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

3. Esterilizar los materiales de vidrio a 120 grados centígrados por 15 minutos.(tubos para dilución y solución diluyente)
4. Almacenar en refrigeración a 4 grados centígrados.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

SIEMBRA E INOCULACIÓN:

1. Atemperar los medios de cultivo y solución diluyente.
2. Desinfectar el área de trabajo, con solución antiséptica al 70%.
3. Pesar 10 gr de muestra de suelo y adicionar 90 ml de solución salina estéril (dilución 1).
4. Del paso 3 tomar 1 ml y pasar a un tubo que contiene 9 ml de solución estéril y homogenizar (dilución 2).
5. Repetir el paso 4 y se obtiene la dilución 3.
6. De la dilución 2 y 3 sacar 1 ml y colocar en una caja Petri respectivamente y homogenizar. Ver en la figura 19.

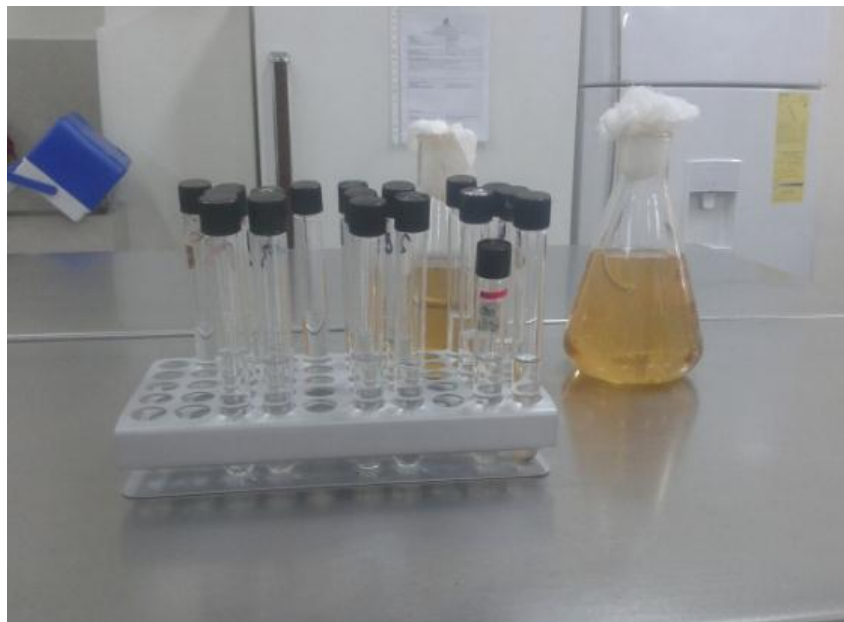


Figura 19: Preparación de diluciones.

Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

7. Colocar el agar en cantidad suficiente en cada una de las cajas Petri y homogenizar.
8. Incubar a 37 grados centígrados durante 48 horas.
9. Realizar el conteo de colonias.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



3.9.6 Temperatura

La temperatura en el suelo se midió con un termómetro Celsius de mercurio con escala de 0.1°C en el tubo capilar.

3.10 DISEÑO ESTADÍSTICO

En la presente investigación se utilizó el diseño factorial experimental 2^2 , el cual analiza todas las posibles combinaciones de los diferentes niveles de los factores en las réplicas de la investigación, para estudiar el efecto conjunto de estos sobre una respuesta. El diagnostico final nos permitirá determinar si cada uno de los factores afecta o no la respuesta, y en qué medida, así como nos dirá si existe o no interacción entre ambos factores; de esta manera llegar a conclusiones precisas al final de la investigación (Galbiati Riesco, 2005).

3.10.1 Modelo matemático

Consideramos dos factores: A y B, cada uno a 2 niveles.

Normalmente consideramos estos niveles como los niveles alto y bajo del factor. Para cualquier diseño 2^k con n replicas, la estimación del efecto y de los cuadrados se estiman de la siguiente forma:

$$\text{Efecto} = \text{Contraste}/n2^{K-1} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$SS_x = [\text{Contraste}]^2/n2^k \quad (\text{Ec. 10})$$

Los efectos de interés en el diseño 2^2 , son los efectos principales de A y B y la interacción AB.

Estimaremos cada uno de los efectos de la siguiente forma:

$$A = [a+ab-b-(1)]/2n$$

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



$$B = [b+ab-a-(1)]/2n$$

$$AB = [ab+ (1)-a-b]/2n \quad (\text{Ec. 11})$$

Las cantidades entre corchetes en las ecuaciones anteriores se llaman contrastes. Podemos utilizar los contrastes para calcular las sumas de cuadrados para A, B y la interacción AB.

$$SS_A = [a+ab-b-(1)]^2/4n$$

$$SS_B = [b+ab-a-(1)]^2/4n$$

$$SS_{AB} = [ab+ (1)-a-b]^2/4n \quad (\text{Ec. 12})$$

El almacenamiento de todos los datos obtenidos de las diferentes variables de control a lo largo de la investigación se lo realizó en el programa de Microsoft Office Excel 2007.

Para el análisis estadístico de las variables se utilizó el programa Minitab 17 versión 17.3.1.

Se realizó una gráfica de Pareto de efectos estandarizados para determinar la importancia y la magnitud del factor compost, surfactante y la interacción de estos (Minitab, 2010).

Se realizó una prueba de normalidad para determinar si los datos obtenidos en la investigación satisfacen el supuesto de normalidad.

Se realizó una gráfica de interacciones para saber si el efecto de un factor depende del nivel del otro factor.



CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LAS MUESTRAS

Los resultados de las propiedades químicas, físicas y microbiológicas de las muestras iniciales de los tratamientos, utilizados en esta investigación se presentan en la tabla 8. Los resultados de la homogenización de la muestra arrojaron una concentración de 23108 mg/kg HTP en los 4 tratamientos y en los 4 tratamientos restantes (replicas) arrojaron una concentración de 20808 mg/kg HTP , los cuales están por encima del límite máximo permisible que para uso agrícola es <2500 mg/kg (RAOHE, 2010).

Tabla 8: Resultados iniciales de los tratamientos.

PARAMETROS	Línea Base1	Línea Base 2	Testi 1	Testi 2 R	T 1	Tra2 R T1	T 3	Tra4 R T3	Tra5	Tra6 R T5	Tra7	Tra8 R T7
Temperatura	19	19	20	20	19	20	19	20	20	20	19	19
pH (unidades)	5.42	5.42	6.16	6.08	6.21	6.36	5.73	6.06	6.02	6.39	5.44	6.22
% Humedad	16.01	16.01	11.93	11.85	26.87	22.44	22.44	27.55	26.95	27.91	26.93	26.42
Microorganismos mesófilos aerobios (U.F.C/g)	5.80E+6	5.82E+6	5.81E+6	5.81E+6	5.92E+6	5.90E+6	5.85E+6	5.84E+6	5.88E+6	5.87E+6	5.84E+6	5.83E+6
HTP (mg/kg)	23108	20808	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Plomo (mg/kg)	59	50	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Textura	ARCILLOSO											

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Según los resultados de los diferentes parámetros analizados a cada tratamiento, presentan características aceptables, la temperatura se encuentra en un rango aceptable entre 15 y 45 °C, estos niveles permiten la actividad enzimática y el intercambio celular así como la respiración aerobia (Maroto Arroyo et al., 2008).

El pH presentó unidades entre 5.4 y 6.4 este rango aun no es óptimo para desarrollo de la actividad microbiana. Nivel óptimo: 6-8 unidades.

Los datos de % Humedad se encuentra entre los niveles 20% - 75% por lo que garantizaría el transporte de compuestos orgánicos, oxígeno y nutrientes hacia las células (Maroto Arroyo et al., 2008).

Los resultados del análisis de plomo de las muestras arrojaron valores entre 50 y 58 gr/kg, los cuales están por debajo del límite máximo permisible que para uso agrícola es <100 mg/kg Pb (RAOHE, 2010).

Las gráficas de resultados fueron realizadas con los valores promedio de cada tratamiento con su respectiva réplica.

4.2 TEMPERATURA

Esta propiedad física influye directamente en el incremento de la volatilidad (separación) y velocidad de degradación de contaminantes (Volke Sepúlveda et al., 2004), valores bajos de temperatura aumentarán la viscosidad del hidrocarburo y por consiguiente aumentaría el tiempo de remediación (S. Gómez et al., 2008). El nivel óptimo de temperatura varía entre los rangos de entre 15 y 30 °C (Maroto Arroyo et al., 2008).

Como se puede observar en la figura 20, los valores promedio de la temperatura en los tratamientos aumentaron durante los 2 meses iniciales de la investigación con rangos entre 19 a 21 °C, alcanzando la temperatura máxima

de 23 °C durante el tercer mes en los tratamientos T1 y T5 los cuales contenían en su composición altas dosis de compost. En el mes 4 los valores promedio de temperatura se estabilizaron en 21°C, y disminuyeron durante el mes 5 y 6 hasta alcanzar valores de 20°C. Para los demás tratamientos los valores de temperatura estuvieron entre 19 hasta 22 °C. Resultados semejantes se encontraron en la investigación

En cuanto al testigo el resultado mantuvo rangos entre 19 y 20 °C durante toda la investigación, este es debido a la baja actividad microbiana. Ver anexo A y I.

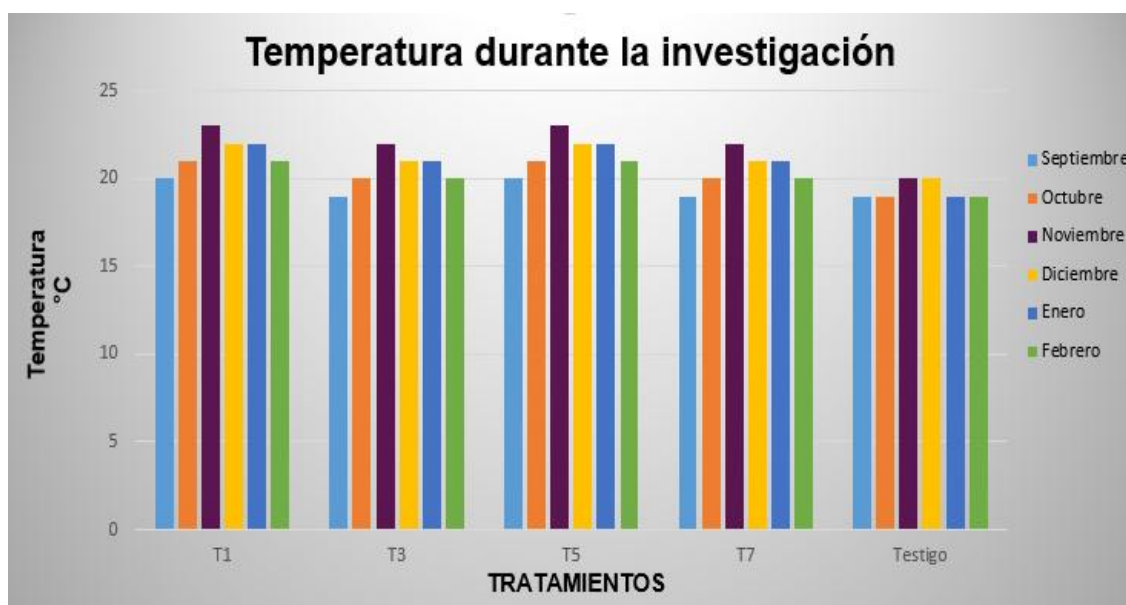


Figura 20: Comportamiento de la temperatura.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Estos resultados concuerdan con los estudios de Romaniuk et al. (2007), quienes registraron una temperatura inicial de 13 °C, alcanzando una temperatura máxima de 24 °C y disminuyendo hasta 19 °C al final de la investigación. Así como también en el estudio de Araujo et al. (2004), afirman



que los resultados de mayor temperatura fueron los tratamientos que contenían alto contenido de materia orgánica debido a la alta actividad microbiana.

4.3 pH

El factor pH afecta en el transporte de metales pesados en el suelo por ende afecta significativamente en la actividad microbiana (Maroto Arroyo et al., 2008). El crecimiento de la actividad microbiana y de los microorganismos se da en los niveles de pH entre 6 y 8 unidades (Anza et al., 2016).

La caracterización inicial del suelo (Línea base) arrojó un valor de pH de 5.4. El suelo del lugar sin alteración tiene un pH de 5.7 lo que indica que el suelo del sitio tiende a ser ácido.

Con respecto a los resultados obtenidos del pH en la figura 21, se identificó que el valor promedio de pH en el primer mes de los tratamientos fue de 6.2. Para el tercer mes alcanzó el promedio¹⁵ de 6.6 y para el sexto mes presentó el máximo del promedio de la investigación de 6.9.

En cuanto a los testigos, el promedio de pH fue de 5.4 durante toda la investigación. Ver anexo B y J.

¹⁵ Los valores promedio fueron obtenidos por la suma de sus resultados dividido por el número de denominadores.

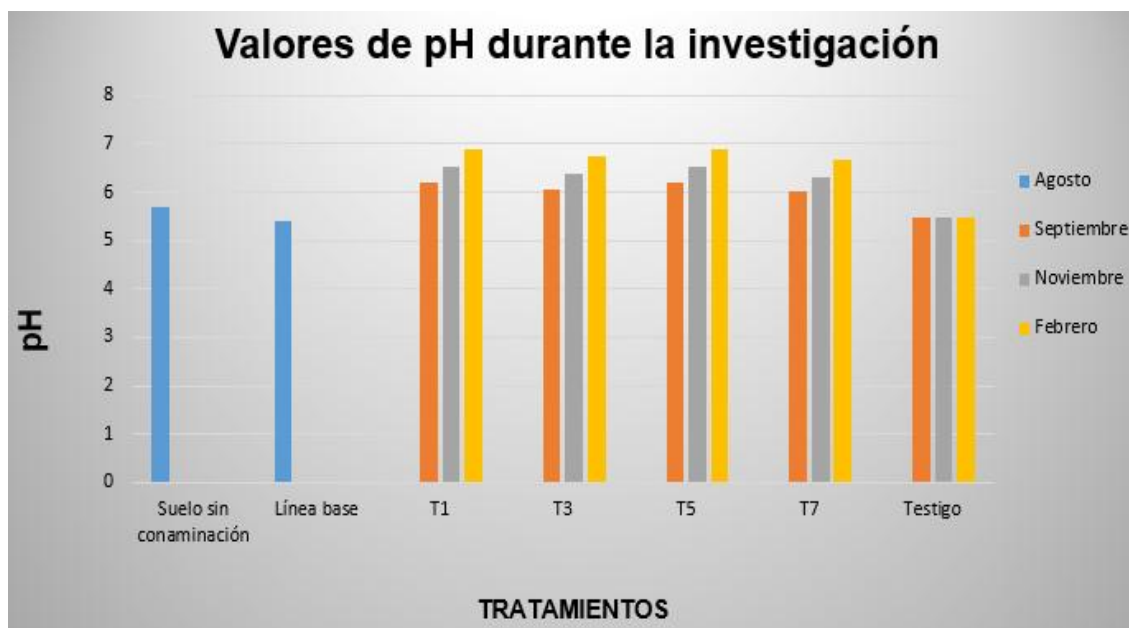


Figura 21: Comportamiento de pH.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

En el estudio de Castro et al. (2004), al igual que en el estudio de Órtinez et al. (2003) mostraron en sus resultados un comportamiento creciente durante la investigación entre un rango de 4.7 y 6.8, los cuales son similares a este estudio teniendo los máximos rangos en los tratamientos con mayor cantidad de materia orgánica.

Cabe destacar que no se añadió sustancia alguna para el incremento del potencial de hidrogeno durante la investigación, así como ocurrió de igual forma en el estudio de Liu et al. (2010), en donde iniciaban con un pH ácido y finalizaban con un pH neutro sin agregar ningún acondicionador.

4.4 HUMEDAD

El crecimiento de la actividad microbiana se da entre el 40% y 85% de humedad (Ruberto et al., 2003). Una alta cantidad de agua afectara al crecimiento bacteriano debido que se reduciría la concentración de oxígeno en el suelo (Maroto Arroyo et al., 2008).

Como se puede observar en la figura 22, los tratamientos mantuvieron una humedad entre el 22 y 27 %, durante el primer mes de investigación, subiendo hasta un 37% para el tercer mes y alcanzando su porcentaje máximo en el último mes con un valor 60% de humedad por consecuencia de la constante adición de agua. Por otro lado las parcelas testigo mantuvieron valores entre 10 y 11 % durante toda la investigación. Ver anexo C y K.

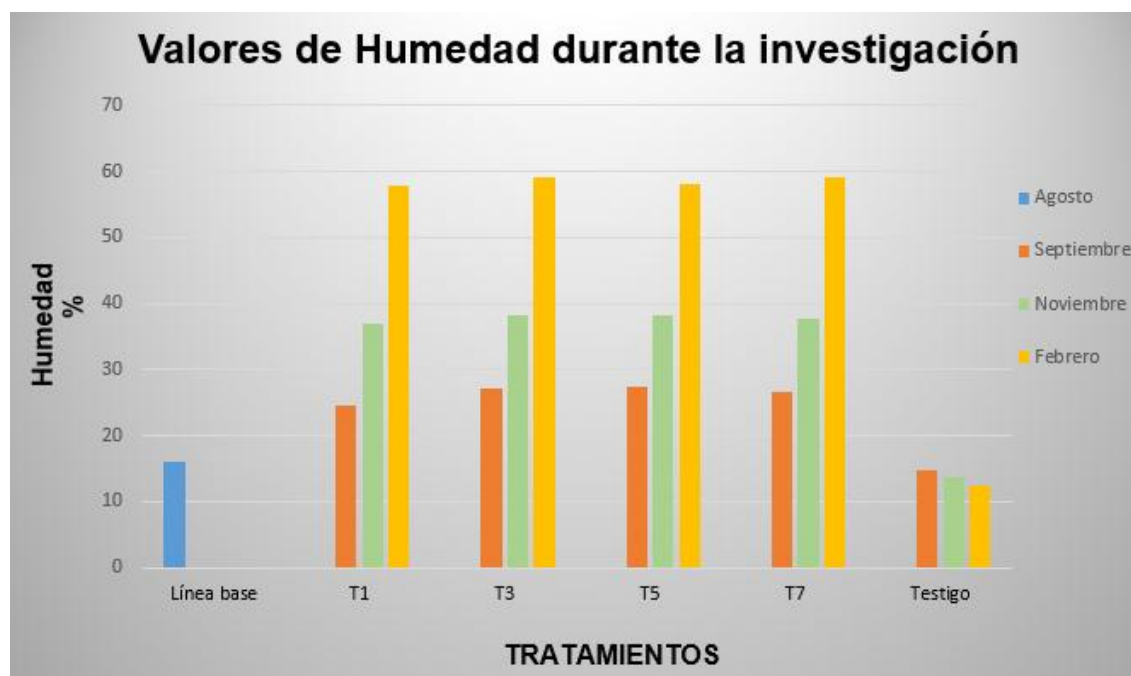


Figura 22: Comportamiento de la Humedad.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.



Valores similares se presentaron en la investigación de Pardo et al. (2004) en donde existió un incremento de porcentaje de humedad durante toda la investigación. En el estudio de Gómez et al. (2008) afirman que la humedad del sitio a tratar es un factor importante para la elección de una tecnología en particular, de igual manera Ferrera-Cerrato et al. (2006) presentan que el contenido de humedad del sustrato debe evaluarse previamente para evitar un retraso en las actividades microbianas.

4.5 MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS

Los microorganismos aerobios mesófilos pueden servir como indicador general del estado del suelo ya que condiciones fisicoquímicas óptimas de un suelo es el resultado de una buena actividad microbiana (Fernández et al., 2008).

En la figura 23, se puede observar el incremento de los microorganismos aerobios mesófilos en cada uno de los tratamientos durante la investigación. Al inicio del tratamiento existía 5.80×10^6 UFC/g (línea base) y al final del estudio se alcanzó valores de 3.27×10^7 UFC/g, debido a la adición de nutrientes presentes en la materia orgánica, por consecuencia el tratamiento T1 muestran los mayores incrementos de organismos. Lo que sugiere que existe una adaptación a la nueva fuente de energía como se puede observar en el estudio realizado por Gómez et al. (2009) en donde alcanzaron colonias de 10×10^8 UFC/g aplicando bioaumentación.

El testigo no tuvo mayor incremento de los microorganismos aerobios mesófilos comparando con la cantidad inicial. Ver anexo D y L.

Como se afirma en el estudio de Castro-Mancilla et al. (2013) para degradar hidrocarburos se requieren poblaciones mixtas de cepas bacterianas con capacidades enzimáticas, debido a que se producen productos intermedios que son metabolizados por diferentes microorganismos.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Figura 23: Comportamiento de los microorganismos aerobios mesófilos.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

4.6 HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO

En la figura 24, se puede observar la evolución que ha tenido los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en cada uno de los tratamientos incluyendo el testigo durante la fase de investigación.

Se inició la investigación con un valor promedio de 21958 mg/kg de HTP (línea base). Los resultados del tercer mes muestran un promedio de reducción de 12200,1 mg/kg de HTP siendo el T1 el que más reducción presenta. Al sexto mes los resultados arrojan una reducción promedio de 19041 mg/kg de HTP siendo el T1 con mejores resultados llegando a un valor de 2423.5 mg/kg al final de la investigación, lo que representa el 89 % de reducción. Resultados similares de reducción de HTP se puede observar en el estudio realizado por

Ñustez (2012), en donde alcanza una reducción de 16391,18 mg/Kg al sexto mes.

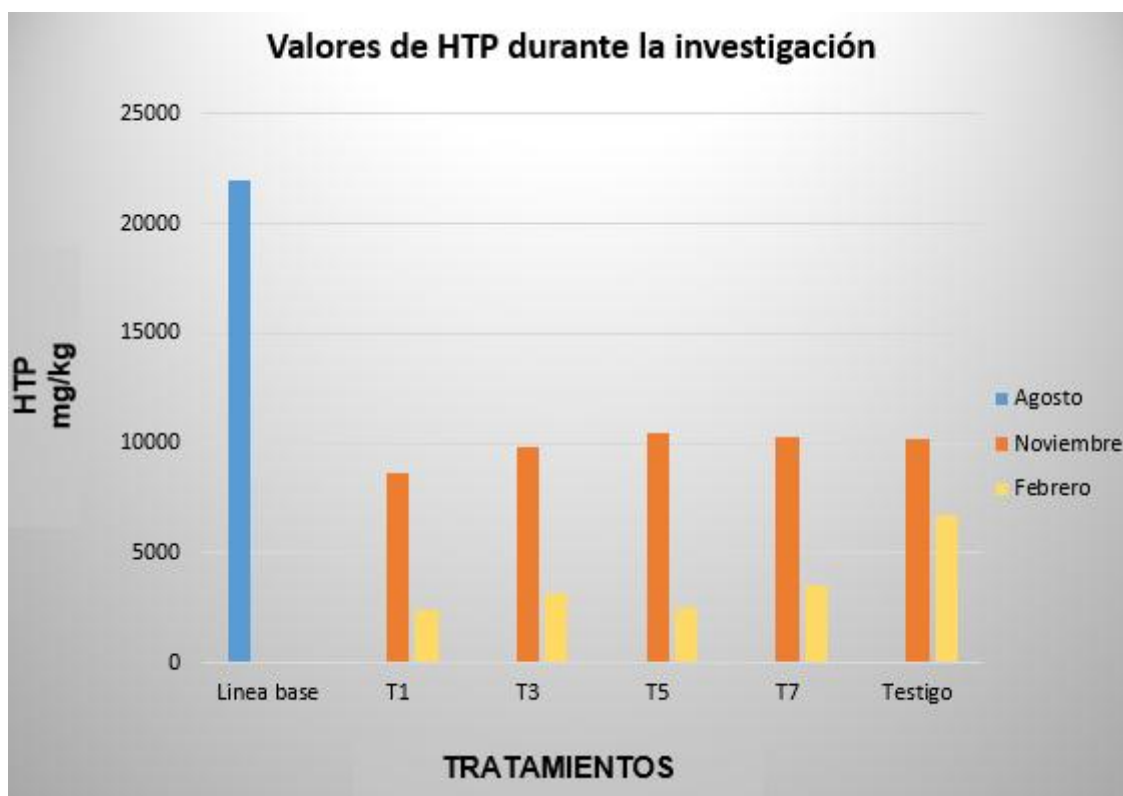


Figura 24: Comportamiento de los HTP durante la investigación.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Los testigos tuvieron una reducción de 10165 mg/kg al tercer mes y de 6747 mg/kg de HTP al sexto mes de investigación. Ver anexo E y G.

Resultados similares presentó la publicación realizada por Araujo et al. (2004), indicando también una reducción mayor a los 3 meses y luego continuo de una manera más lenta hasta el final de la investigación.

En la tabla 9, se puede observar los resultados al final de la investigación comparándolas con la normativa del RAOHE.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

Tabla 9: Comparación de resultados HTP con la normativa.

HTP (mg/kg) ¹⁶	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Valores Promedio	<2500	<4000	<1000
Línea base	21958	21958	21958
Testigo	6747.5	6747.5	6747.5
T1	2423.5	2423.5	2423.5
T3	3194.5	3194.5	3194.5
T5	2532	2532	2532
T7	3518	3518	3518

Fuente: (RAOHE, 2010)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.7 PLOMO

En la figura 25, se puede apreciar la evolución que ha tenido el plomo (Pb) en cada uno de los tratamientos incluyendo los testigos. Al inicio de la investigación se tienen un valor promedio de 54.5 mg/kg de Pb (línea base). En los resultados del tercer mes muestran un promedio de incremento de 6.25 mg/kg de Pb siendo entre los tratamientos el T1 el que más incremento presenta. Al sexto mes los resultados presentan un incremento promedio de 9.8 mg/kg de Pb siendo el T1 y T5 entre los tratamientos los de mayor incremento. Los testigos tuvieron un incremento de 16.5 mg/kg al tercer mes y de 33.5 mg/kg al sexto mes. Ver anexo F y H.

¹⁶ Los resultados que fueron menores al límite máximo permisible se marcaron de color rojo.

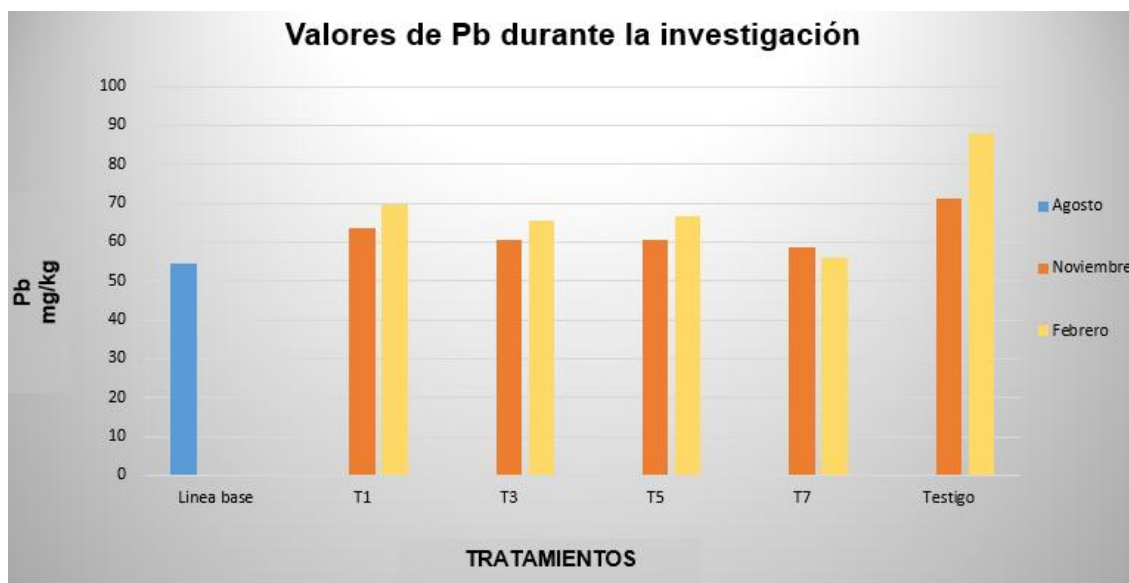


Figura 25: Comportamiento del Pb.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Este comportamiento se puede evidenciar de igual forma en un estudio elaborado por Rosal et al. (2007), en donde se presenta que el aumento de la concentración de los metales pesados, así también presentaron Moreno et al. (2004) en su investigación afirmando que el aumento de la concentración de Pb es debido al decrecimiento del compostaje por la respiración de la biomasa. Lo cual se puede evidenciar claramente en los valores que presentan los testigos en donde no se adicionó ningún tratamiento.

En la tabla 10, se puede observar los resultados al final de la investigación comparándolas con la normativa del RAOHE.

Tabla 10: Comparación de resultados Pb con la normativa.

Pb (mg/kg) ¹⁷	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Valores Promedio	<100	<500	<80
Línea base	54.5	54.5	54.5
Testigo	88	88	88

¹⁷ Los resultados que fueron menores al límite máximo permisible se marcaron de color rojo.



T1	69.5	69.5	69.5
T3	65.5	65.5	65.5
T5	66.5	66.5	66.5
T7	56	56	56

Fuente: (RAOHE, 2010)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO de los datos.

Se dividió los análisis estadísticos de los HTP y Pb a los 3 y 6 meses para una mejor comprensión de los resultados.

4.8.1 HTP datos al tercer mes (HTP1)

PRUEBA DE NORMALIDAD

En la figura 26, se puede observar que los datos siguen una distribución normal mediante la prueba de Anderson- Darling, con un nivel de significancia del 95%. El valor p es 0.90 y por ende es mayor a 0.05, que es su valor de significancia.

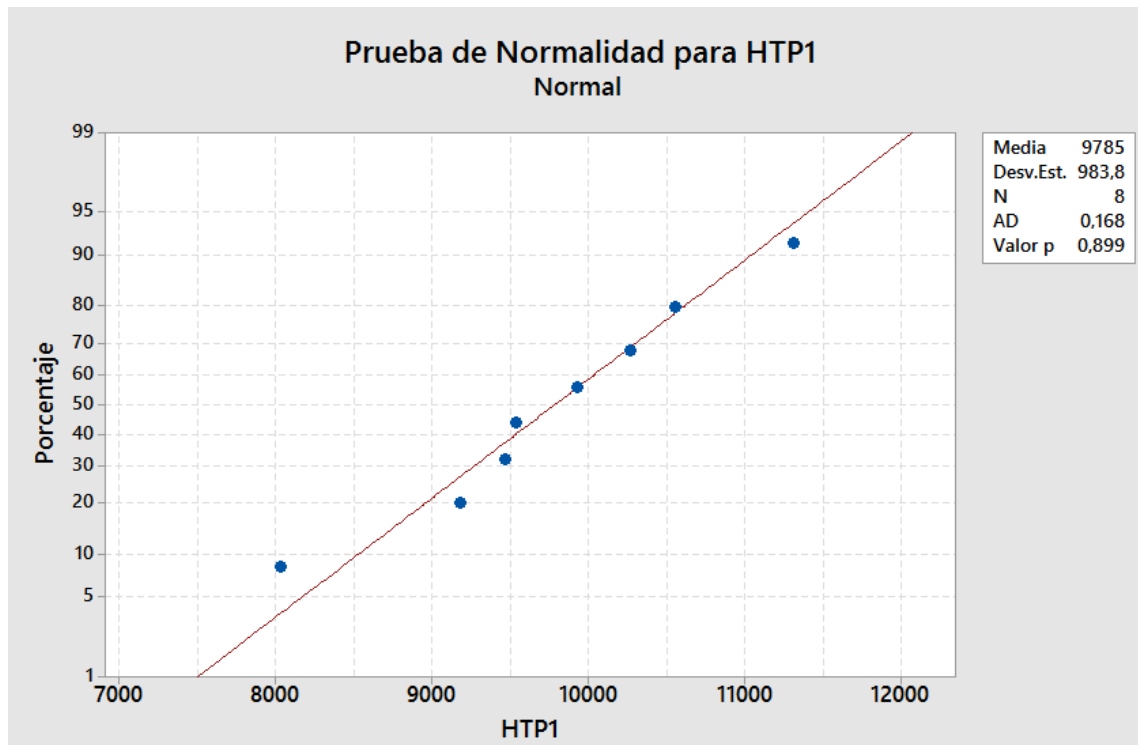


Figura 26: Prueba de normalidad.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

GRÁFICA DE PARETO DE EFECTOS ESTANDARIZADOS

En el diagrama de Pareto de la figura 27, se puede observar que la interacción entre compost y surfactante (AB) es estadísticamente significativo en la influencia de la degradación de los hidrocarburos en el suelo, porque se encuentra por delante de la línea de referencia correspondiente a $\alpha = 0.05$, por opción predeterminada.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

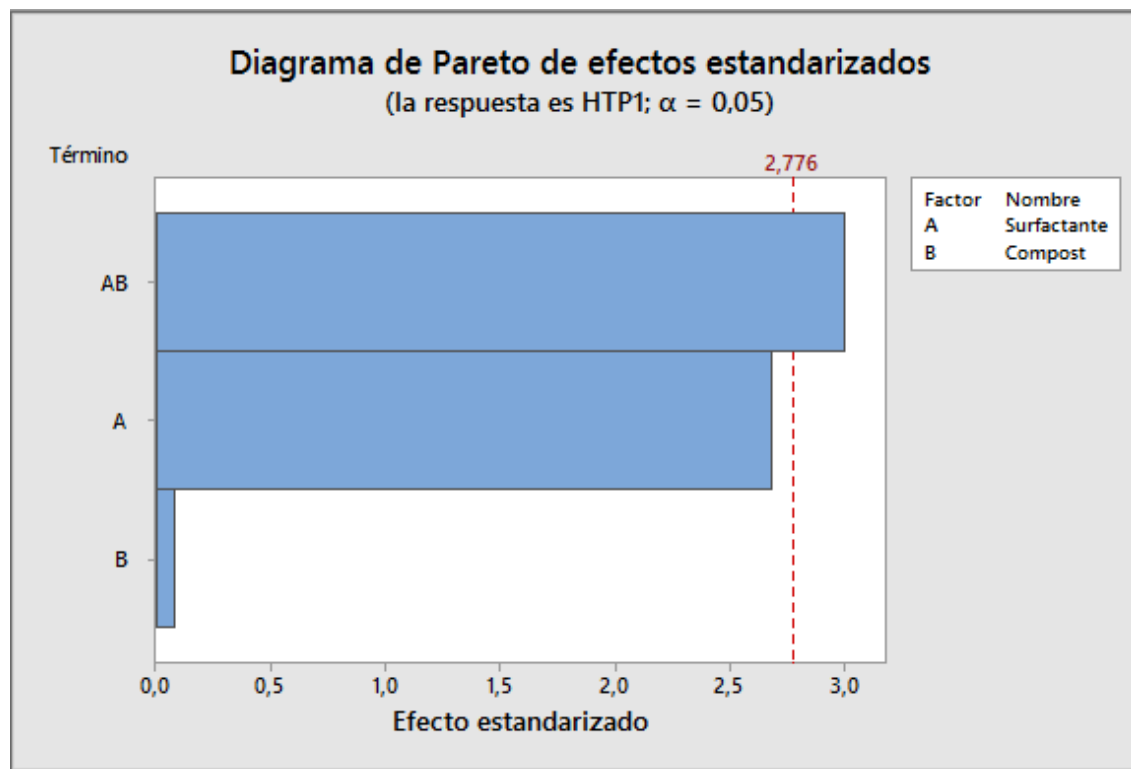


Figura 27: Diagrama de Pareto.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

GRÁFICA DE INTERACCIÓN.

Según la figura 28, la gráfica de interacción muestra la media de los HTP1 versus el compost por cada uno de los dos valores de surfactante. Esta gráfica muestra una interacción aparente, porque las líneas no son paralelas, lo que implica que el efecto de compost en los HTP1 depende de la cantidad de surfactante.

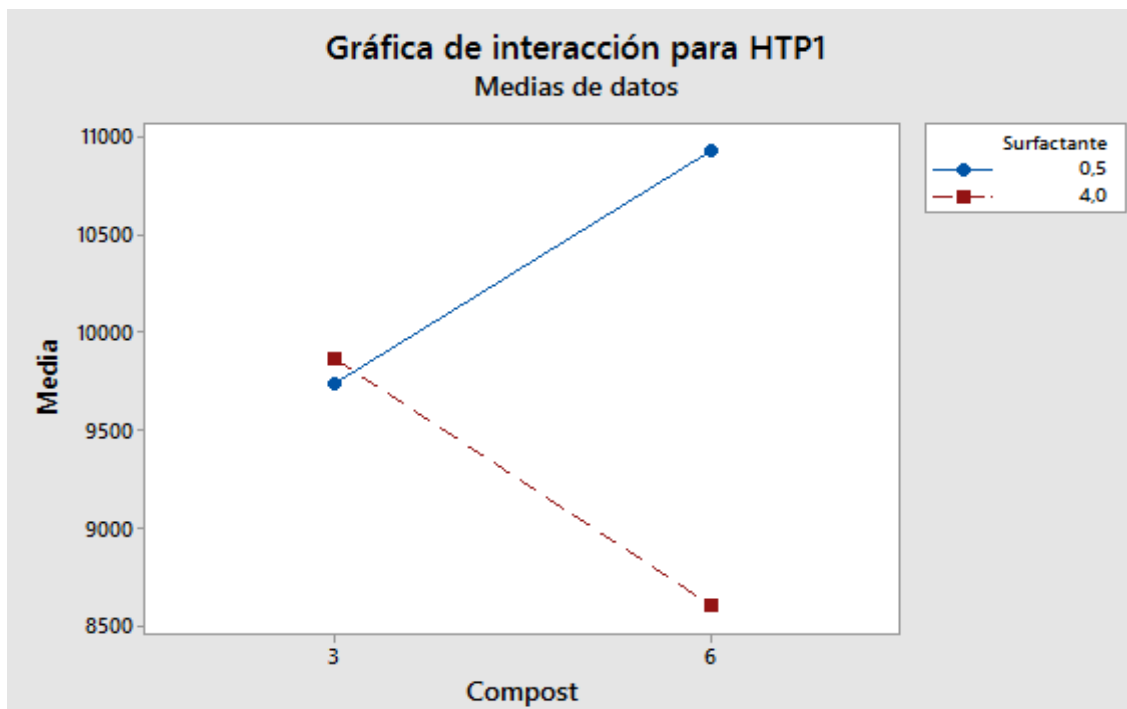


Figura 28: Gráfica de interacciones.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

ANÁLISIS DE VARIANZA

Como se puede observar en la tabla 11, la interacción entre compost y surfactante posee un valor de 0.040 que es menor a $\alpha = 0.05$ por lo que es el único que tiene importancia en la reducción de hidrocarburos en el suelo.

Tabla 11: Tabla de Anova.

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Surfactante	1	7,19	0,06
Compost	1	0,01	0,94
Sur * Com	1	8,99	0,04
Error	4		
Total	7		

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Media de datos	9785		
Desv. Est.	983.8		

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.8.2 HTP datos al sexto mes (HTP2)

DIAGRAMA DE PARETO DE EFECTOS ESTANDARIZADOS.

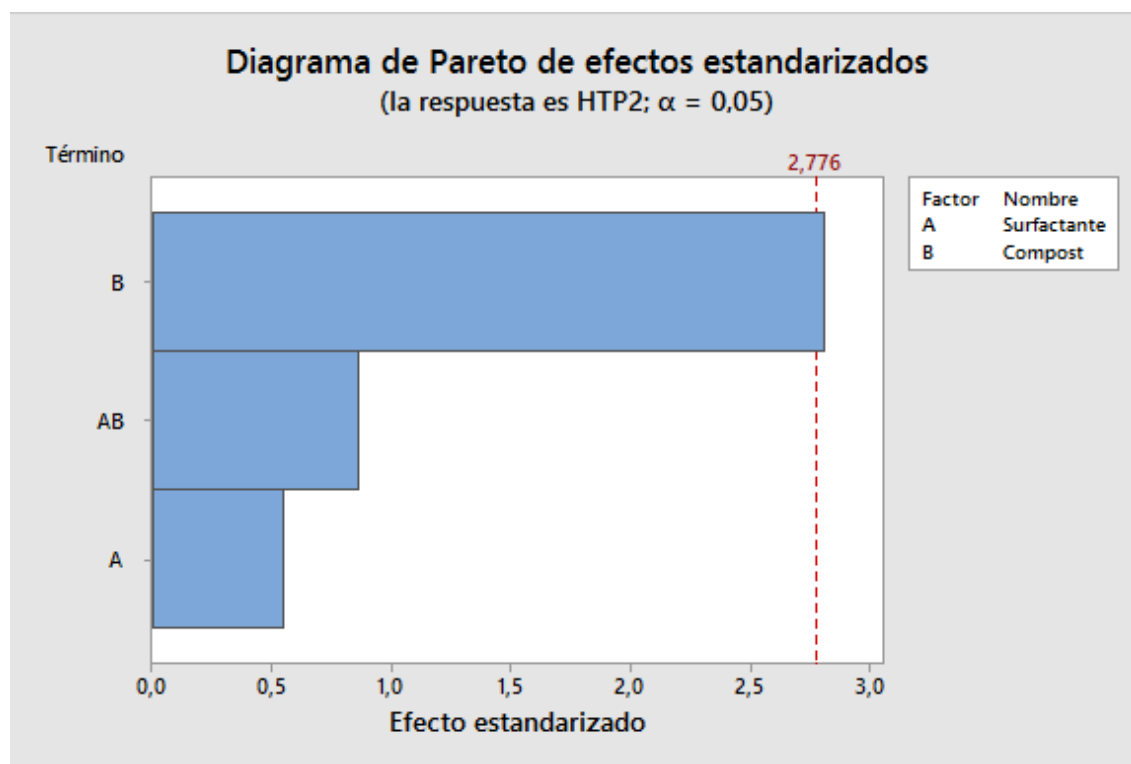


Figura 29: Diagrama de Pareto.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

En el diagrama de Pareto de la figura 29, se observa que existe un cambio ya que la variable compost es estadísticamente significativo porque se encuentra

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

por delante de la línea de referencia correspondiente a $\alpha = 0.05$, por opción predeterminada, el factor interacción AB y surfactante disminuyó al sexto mes de la investigación.

GRAFICA DE INTERACCIÓN

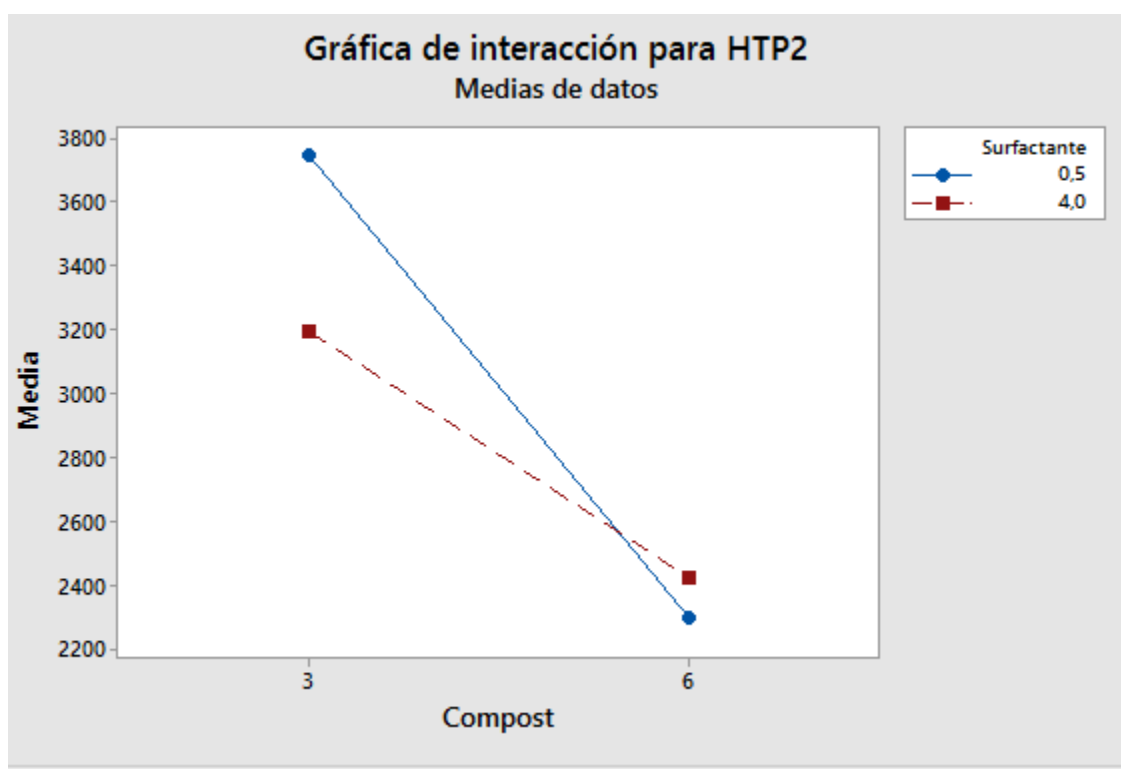


Figura 30: Gráfica de interacciones.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

Según la figura 30, la gráfica de interacción de los factores compost y surfactantes a los 6 meses, se muestra la media de los HTP versus el compost por cada uno de los dos valores de surfactante. Esta gráfica muestra una interacción aparente, porque las líneas no son paralelas, lo que implica que el efecto de la dosis alta de compost en los HTP depende de la cantidad de surfactante.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



ANÁLISIS DE VARIANZA

Según la tabla 12, existe un cambio al sexto mes ya que el factor compost posee un valor 0.048 que es menor a $\alpha = 0.05$ por lo que es el único que tiene importancia estadística.

Tabla 12: Tabla de Anova.

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Surfactante	1	0,30	0,61
Compost	1	7,89	0,04
Sur * Com	1	0,74	0,44
Error	4		
Total	7		
Media de datos	2917		
Desv. Est.	760.2		

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.8.3 Eficiencia de los tratamientos durante la biorremediación de HTP

De acuerdo a los datos obtenidos se obtuvo el porcentaje de eliminación de los TPH durante la investigación. Como se aprecia en la figura 31, el T1 (88.96%) y el T5 (88.47%) son los que más porcentaje de degradación tienen en la descomposición de hidrocarburos totales de petróleo (HTP).

Además el testigo presenta un valor porcentual de 69.27, de igual manera el estudio elaborado por Corona (2005) presenta resultados semejantes por consecuencia del proceso de metabolismos de los microorganismos

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

degradadores, los cuales utilizan moléculas hidrocarburíferas como fuente de energía.

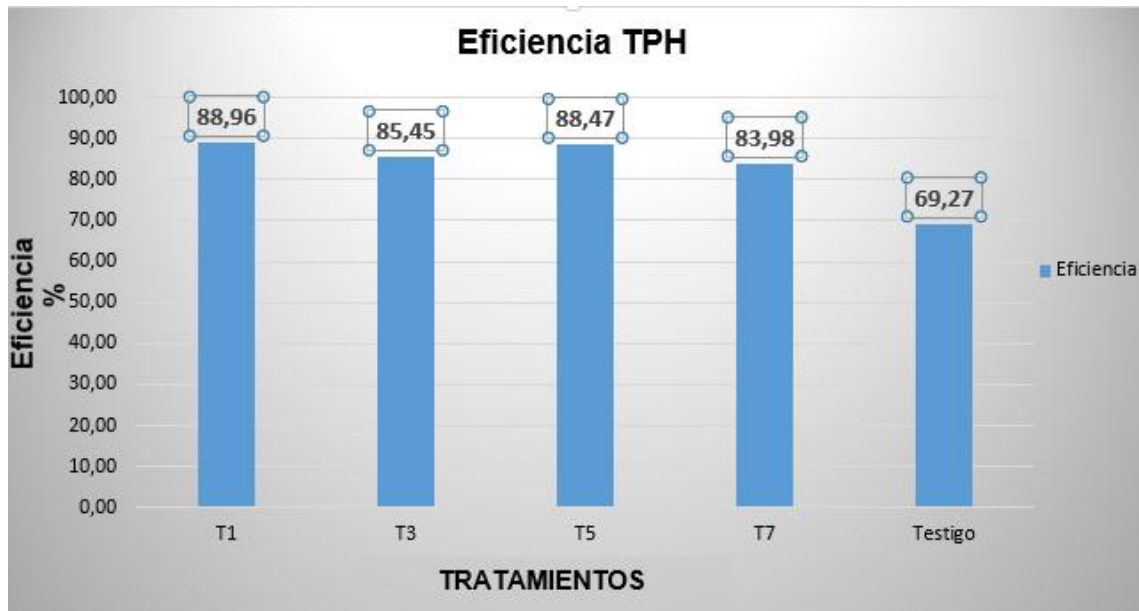


Figura 31: Eficiencia de HTP

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.8.4 Plomo datos al tercer mes (Pb1)

PRUEBA DE NORMALIDAD

En la figura 32, se puede observar que los datos siguen una distribución normal mediante la prueba de Anderson- Darling ya que el valor p es de 0.502 mayor a 0.05 que es el valor de significancia establecido.

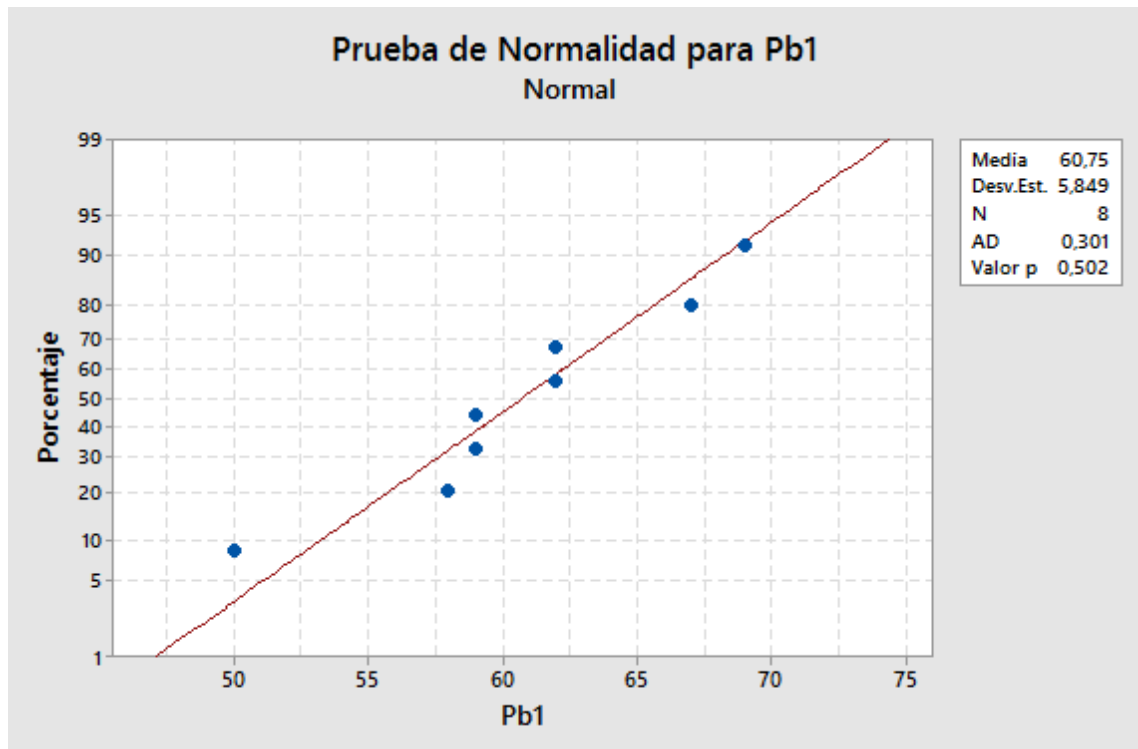


Figura 32: Prueba de normalidad.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

DIAGRAMA DE PARETO DE LOS EFECTOS ESTANDARIZADOS.

En el diagrama de Pareto de la figura 33, se observa que ninguna de las variables es estadísticamente significativo porque se encuentran atrás de la línea de referencia correspondiente a $\alpha = 0.05$, por opción predeterminada, debido a que no hubo una reducción de plomo en el suelo.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

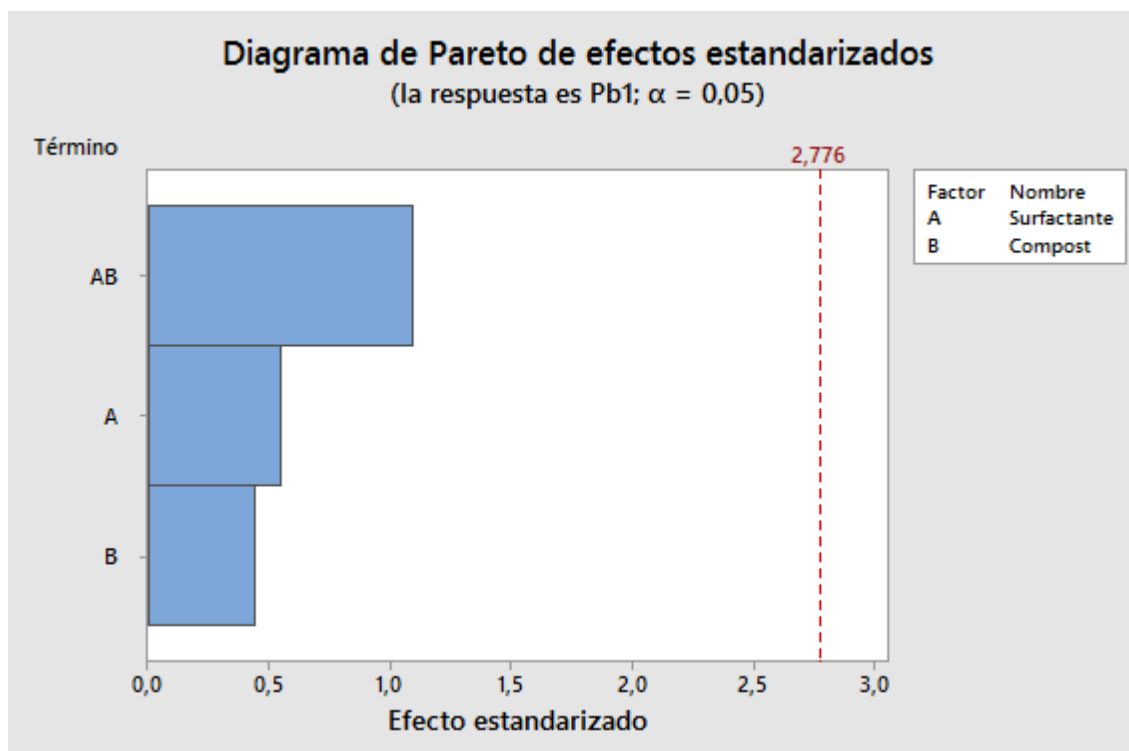


Figura 33: Diagrama de Pareto.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

GRÁFICA DE INTERACCIONES.

Según la figura 34, en la gráfica de interacción se muestra la media del Pb versus el compost por cada uno de los dos valores de surfactante. Esta gráfica muestra una interacción aparente porque las líneas no son paralelas, lo que indica que el efecto de compost en el Pb depende de la cantidad de surfactante.

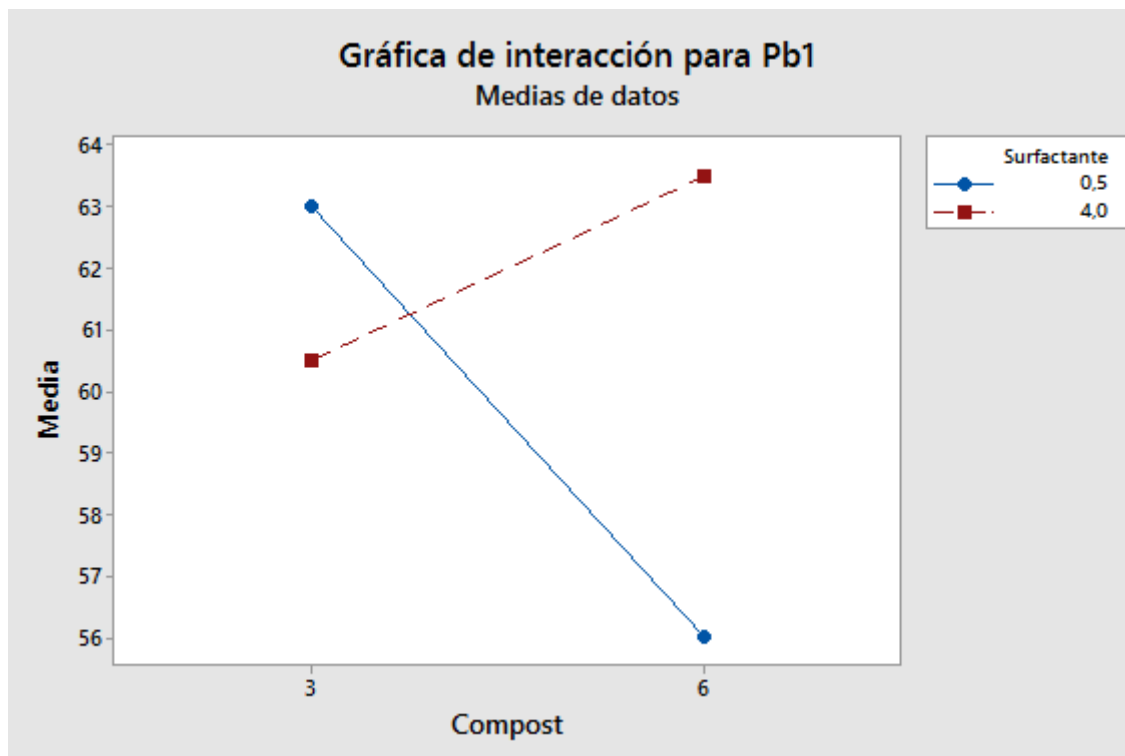


Figura 34: Gráfica de interacciones.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

ANÁLISIS DE VARIANZA

Según la tabla 13, el factor compost, surfactante y la interacción entre estos posee un valor mayor a $\alpha = 0.05$ por lo que ninguno tiene importancia estadística.

Tabla 13: Tabla de Anova.

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Surfactante	1	0,30	0,615
Compost	1	0,19	0,686
Sur * Com	1	1,18	0,338

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Error	4		
Total	7		
Media de datos	60.75		
Desv. Est.	5.849		

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

4.8.5 Plomo datos al sexto mes (Pb2)

DIAGRAMA DE PARETO DE EFECTOS ESTANDARIZADOS.

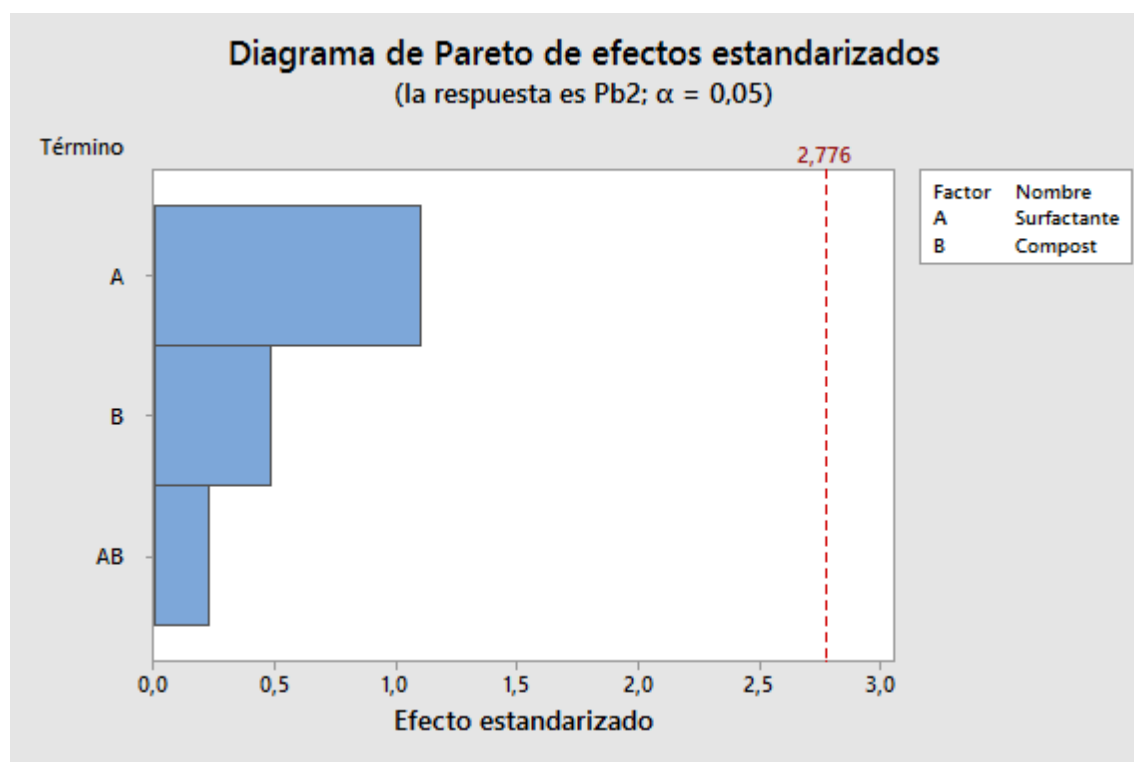


Figura 35: Diagrama de Pareto.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

En el diagrama de Pareto de la figura 35, podemos observar que ninguna de las variables es estadísticamente significativo porque se encuentran atrás de la línea de referencia correspondiente a $\alpha = 0.05$, por opción predeterminada.

GRÁFICA DE INTERACCIONES

Según la figura 36 de la gráfica de interacción, muestra la media del Pb versus el compost por cada uno de los dos valores de surfactante. Esta gráfica muestra una interacción casi mínima debido a que las líneas son casi paralelas, lo que implica que el efecto de compost en el Pb depende de la cantidad de surfactante.

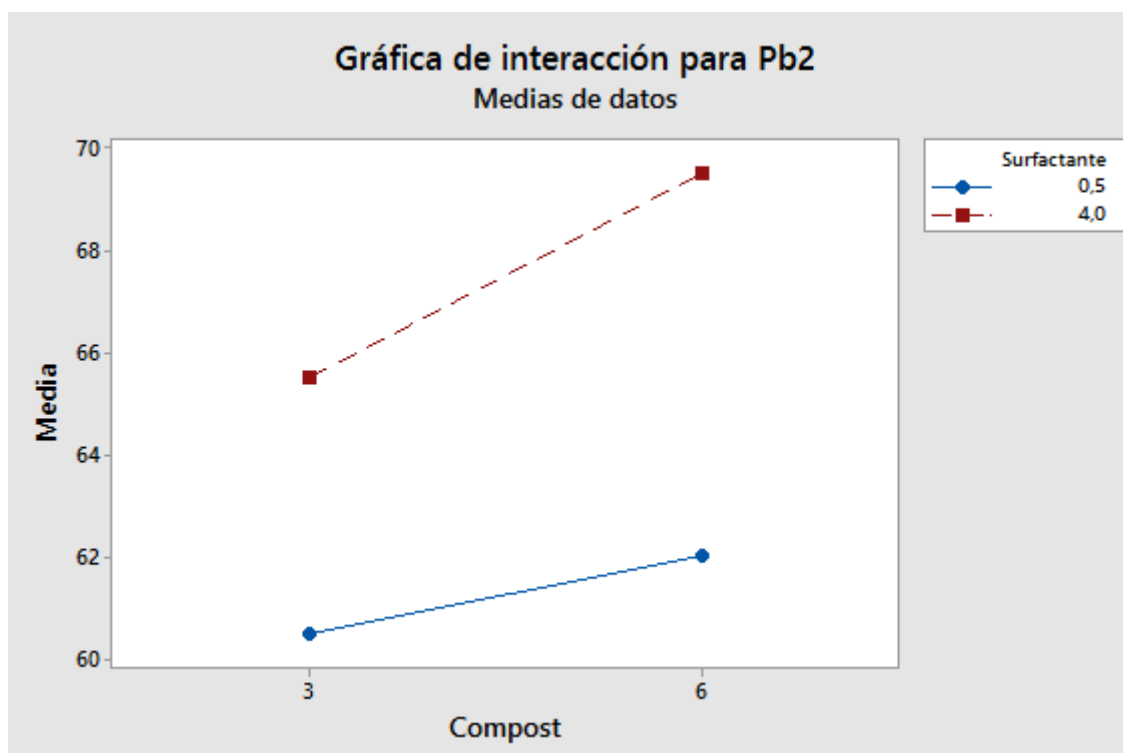


Figura 36: Gráfica de interacciones.

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza



ANÁLISIS DE VARIANZA

Se observa en la tabla 14, el factor compost, surfactante y la interacción entre estos posee un valor mayor a $\alpha = 0.05$ por lo que ninguno tiene importancia estadística.

Tabla 14: Tabla de Anova.

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Surfactante	1	1,20	0,334
Compost	1	0,23	0,654
Sur * Com	1	0,05	0,837
Error	4		
Total	7		
Media de datos	64.38		
Desv. Est.	7.130		

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza



CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

El promedio de reducción de HTP en el primer trimestre es de 12173,25 mg/kg (55.4%) el cual es mayor a la reducción promedio presentada al segundo trimestre que fue de 6867,875 mg/kg (31.3%), lo cual evidencia que sigue existiendo reducción pero de una manera más lenta, Esta cinética es conocida como el fenómeno del “palo de hockey” , que puede estar causada por una disminución de los nutrientes, de la población microbiana, la baja biodisponibilidad de componentes orgánicos, condiciones fisicoquímicas desfavorables y un aumento de la recalcitrancia de los contaminantes.

Los valores promedio del tratamiento 1 (6 lb de compost + 4 lb de surfactante) es el que alcanzó la mayor disminución de HTP llegando a un porcentaje de reducción del valores del 89 % al final de la investigación, demostrando que la adición de estos factores tienen una influencia significativa y directa en la reducción de HTP en el suelo.

Los microorganismo son pieza fundamental en la reducción de HTP en el suelo, como se puede evidenciar en el incremento de los microorganismos de la línea base presentando valores de $5,81E+6$ UFC/gr, hasta alcanzar valores de $3.24E+7$ UFC/gr con el Tratamiento 1, siendo directamente proporcional el incremento de microorganismos con la reducción de concentraciones de HTP.

Se demostró que el suelo contaminado (Testigo) no alcanza una remediación a los 6 meses comparando para estar por debajo de los límites de la normativa de la RAOHE, sin la adición de nutrientes, aireación y humectación periódica.

Se produjo un aumento de Pb en todos los tratamientos y aún más en el testigo llegando a un valor de 88 mg/kg de Pb debido al decrecimiento de la materia orgánica en el proceso de compost (Rosal et al., 2007).

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Se demuestra que la técnica de biorremediación es económica y eficiente para continuar aplicándola en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

RECOMENDACIONES

Es importante considerar la implementación de un control abiótico, para poder definir el alcance en los procesos de eliminación de HTP y metales pesados.

Realizar una mayor cantidad de repeticiones, de tal manera reducir el porcentaje de error en los resultados.

Mayor control en la compostera del campamento de Guarumales, ya que se encontró materiales no biodegradables que dificultan a un correcto proceso de compostaje.

Establecer normativas en el TULSMA con límites permisibles específicos para hidrocarburos totales de petróleo, ya que carecen de ellos.

Actualmente se han realizado estudios de eliminación de HTP y metales pesados a nivel de laboratorio, pero cabe destacar la importancia de llevar estos experimentos a escala real, con el fin de buscar alternativas de tratamiento antes de su disposición final.



CAPÍTULO 6

BIBLIOGRAFÍA

- Abha, S., & Swaranjit, C. (2012). Hydrocarbon Pollution: Effects on Living Organisms, Remediation of Contaminated Environments, and Effects of Heavy Metals Co-Contamination on Bioremediation. En *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites* (Dr. Laura Romero-Zerón, p. 318). India: InTech.
- Anza, H., Orantes, P., González, R., Ruíz, A., Espinoza, E., Martínez, R., ... Vera, P. (2016, octubre). BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON ACEITE AUTOMOTRIZ USADOS MEDIANTE SISTEMA DE BIOPILAS. *ESPACIO I+D*, 5(12), 49–77.
- Araujo, I., Angulo, N., Cardenas, C., Méndez, M., Morante, M., & Machado, M. (2004). Biorremediación de suelos con consorcio bacteriano, compostaje y fertilización. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 38(3).
- ATSDR. (2016). Resumen de Salud Pública: Hidrocarburos totales de petróleo.
- Balmori, Y. S. (2008). CRUCIBIOQ BIOSÍNTESIS DE LÍPIDOS. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(3), 103–105.
- Becerra, S., Paichard, Sturma, & Maurice. (2013). Vivir Con La Contaminación Petrolera En El Ecuador. *Revista Lider*, 23, 102–120.
- Benintende, S. (2010). Metabolismo microbiano. Facultad de Ciencias Agropecuarias.



- Bognolo. (1999). Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. *Science Direct*, 152, 41–52.
- Bollobás, B., & Riordan, O. (2006). *Percolation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Castro, J. L. P., Rojas, M. C. P., & de Mesa, J. B. L. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova*, 2(2).
- Castro-Mancilla, Y. V., Castro-Meza, B. I., Francisco, R., Rivera-Ortiz, P., Heyer-Rodríguez, L., & Ortiz-Carrizales, Y. P. (2013). VARIACIÓN DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DEL SUELO POR LA ADICIÓN DE HIDROCARBUROS. *Terra Latinoamericana*, 31(3), 221–230.
- Coria, I. D. (2007). Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Centro de Altos Estudios Globales*, <http://www.sustentabilidad.uai.edu.ar/pdf/ing/UAIS-IGA-600-001>.
- Corona, L., & Iturbe, I. (2005). Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Redalyc*, 2, 119–126.
- Corona-Ramírez, L., & Iturbe-Argüelles, R. (2005). Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ing. Inv. y Tec*, 6(2).
- Cuadros, A. M. M.-D., & Ambiental, M. (2005). Técnicas de Remediación Biológicas.
- de Mesa, J. B. L., Quintero, G., Vizcaíno, A. L. G., Cáceres, D. C. J., Riaño, S. M. G., & García, J. M. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5).



Del Río, & Uribe. (2009, septiembre 24). TRATAMIENTO DE ACEITES, LODOS DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES Y EMULSIONES PROVENIENTES DEL PROCESO DE DECAPADO, LAMINACIÓN Y GALVANIZACIÓN DEL ACERO A TRAVÉS DE LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS: LANDFARMING.

Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597–612.

Delgado, K. T., & Montoya, T. Z. (2009). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. *Facultad de Mina. Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Trabajo de grado para optar el título de Ingeniería Química.*

Di Paola, M. M., & Vicién, C. (2010). *Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación.*

ECUAQUIMICA. (2008). ACIDO HUMICO 75%. Recuperado el 8 de marzo de 2017, a partir de

EMEP. (2017). The European Monitoring and Evaluation Programme [Cientific].

FAO. (2017, febrero 7). TEXTURA DEL SUELO.

Fernández, C., Llobregat, M., Jiménez, B., Altomare, V., & Labrador, H. (2008, julio). BIODEGRADACIÓN DE ASFALTENO Y RESINAS POR MICROORGANISMOS PRESENTES EN SUELO CONTAMINADO CON



HIDROCARBURO. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.*, 23(4), 7–15.

Ferrera-Cerrato, R., Rojas-Avelizapa, N. G., Poggi-Varaldo, H. M., Alarcón, A., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. *Rev Latinoam Microbiol*, 48(2), 179–187.

Galbiati Riesco, J. (2005). Diseño de Experimentos Factoriales con aplicaciones a Procesos Industriales.

Garcia, E., & Roldán, F. (2011). EVALUACIÓN DE LA BIOESTIMULACION (NUTRIENTES) EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS UTILIZANDO RESPIROMETRIA. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 195–208.

Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., & Mantilla, P. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. *Publicación científica en ciencias biomédicas*, 6(9), 101–212.

Gómez, W., Gaviria, J., & Cardona, S. (2009a). EVALUACIÓN DE LA BIOESTIMULACIÓN FRENTE A LA ATENUACIÓN NATURAL Y LA BIOAUMENTACIÓN EN UN SUELO CONTAMINADO CON UNA MEZCLA DE GASOLINA-SUELO CONTAMINADO CON UNA MEZCLA DE GASOLINA. *Dyna*, 76(160), 83–93.



- Gómez, W., Gaviria, J., & Cardona, S. (2009b). Evaluación de la bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaumentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina-suelo contaminado con una mezcla de gasolina. *Dyna*, 76(160), 83–93.
- González, H. H. R., Bustillos, L. G. T., Fernández, I. M., Cortes, J. de J. B., & Moroyoqui, P. G. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Química Viva*, 9(3), 120–145.
- Grow More. (1994, febrero 12). HOJA DE SEGURIDAD DE MATERIALES - ACIDO HUMICO 75 %.
- Gruntec. (2016). Gruntec Enviromental Services.
- HIDROPAUTE. (2004). Plan de Manejo Ambiental MAZAR.
- Ilyin, I., Berg, T., & Dutchak, S. (2004). Heavy Metals.
- INAMHI. (2016). Anuario Meteorológico. DIRECCIÓN EJECUTIVA DEL INAMH.
- ISO. (2005, Septiembre 1). Sistemas de gestión de la inocuidad de los alimentos - Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria.
- Liu, W., Luo, Y., Teng, Y., Li, Z., & Ma, L. Q. (2010). Bioremediation of oily sludge-contaminated soil by stimulating indigenous microbes. *Environmental Geochemistry and Health*, 32(1), 23–29.
<https://doi.org/10.1007/s10653-009-9262-5>



- Maroto Arroyo, M. E., & Rogel Quezada, J. M. (2008). APLICACIÓN DE SISTEMAS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS Y AGUAS CONTAMINADAS POR HIDROCARBUROS. Geocisa.
- Martín, J. S. (2003). Biorremediación. *Fundamentos y aspectos microbiológicos, Industria y Minería*, 351, 12–16.
- Martínez, M., & García, M. (2012). REVISIÓN: APLICACIONES AMBIENTALES DE MICROORGANISMOS INMOVILIZADOS. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 55–73.
- Ministerio del Ambiente. (2006). Plomo.
- Ministerio del Ambiente. (2014). Guía para el Muestreo de Suelos Contaminados.
- Minitab. (2010). *Minitab 17 Statistical Software*. Minitab Inc.
- Moreno, C. M., Becerra, A. G., & Santos, M. J. B. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Rev Iberoam Micol*, 21(1), 103–120.
- Mulligan, K. (2004, junio 22). Environmental applications for biosurfactants. *Science Direct*, 133, 183–198.
- Nieto-Velázquez, S., Pacheco-Hernández, L., Galán-Vidal, C. A., & Páez-Hernández, M. E. (2011). Estudio de las Interacciones Ácido Húmico-Metales Pesados y Determinación de sus Constantes de Estabilidad por Electroforesis Capilar. *Información Tecnológica*, 22(3), 45–54.
<https://doi.org/10.4067/S0718-07642011000300007>



- Ñustez Cuartas, D. C., & others. (2012). *Biorremediación para la Degradación de Hidrocarburos Totales Presentes en los Sedimentos de una Estación de Servicio de Combustible*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira.
- Ortínez, O., Ize, I., & Gavilán, A. (2003). La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. *Gaceta ecológica*, 69, 83–92.
- Pardo, J., Perdomo, M., & Benavides, J. (2004, diciembre). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova*, 2, 1–108.
- Pérez-Hidalgo, T., & José, T. (2004). La biorremediación frente al vertido del Prestige. *Escuela de Minas de Madrid: publicación tecnológica y docente de la Escuela de Minas de Madrid*, 1, 72–76.
- Perminova, I. V., Hertkorn, N., & NATO Public Diplomacy Division (Eds.). (2005). *Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice*. Dordrecht: Springer.
- Petro, P., & Mercado, G. del C. (2014). BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR DERRAMES DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EN COLOMBIA. *Universidad de San Buenaventura*, 28.
- Raiger, L., & López, N. (2009). Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Química Viva*, 3, 146–161.



Ramos Vásquez, E., & Zúñiga Dávila, D. (2008). EFECTO DE LA HUMEDAD, TEMPERATURA Y PH DEL SUELO EN LA ACTIVIDAD MICROBIANA A NIVEL DE LABORATORIO.

RAOHE. REGLAMENTO AMBIENTAL DE ACTIVIDADES HIDROCARBURIFERAS, Pub. L. No. 1215, 265 (2010).

Riojas, H., & Grotarés, P. (2011, marzo 11). Sinergia En Surfactantes Para La Remediacion De Suelos Contaminados con Hidrocarburos. *Real Sociedad Española de Química*, 107, 243–249.

Ritzema, H. P. (Ed.). (1994). *Drainage principles and applications* (2. ed. (completely rev.)). Wageningen: ILRI.

Robinson, H. D., Knox, K., Bone, B. D., Great Britain, & Environment Agency. (2004). *Improved definition of leachate source term from landfills: phase 1 (review of data from European landfills)*. Bristol: Environment Agency.

Rodríguez, D. T. (2003). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Revista Ecosistemas*, 12(2).

Rodríguez, N. J. P., Acevedo, S. C., Gallo, A., & Mesa, G. P. (2012). Comparación entre bioestimulación y bioaumentación para la recuperación de suelos contaminados con diesel. *Producción+ Limpia*, 7(1), 101–108.

Romaniuk, R., Brandt, J. F., Rios, P. R., & Giuffré, L. (2007). Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ciencia del suelo*, 25(2), 139–149.



- Rosal, A., Pérez, J. P., Arcos, M. A., & Dios, M. (2007). La incidencia de metales pesados en compost de residuos sólidos urbanos y en su uso agronómico en España. *Información tecnológica*, 18(6), 75–82.
- Ruberto, L., Vazquez, S. C., & Mac Cormack, W. P. (2003). Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(2), 115–125. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00048-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00048-9)
- Sámano Tirado, A. P., & Sámano Tirado, E. (2015). SANEAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS UTILIZANDO BIOPILAS EN DEGOLLADO, JALISCO, MÉXICO.
- Sandia, B., Gutiérrez, D., Hernández, D., Alvarado, J., Puig, J. E. P., Paredes, M. J. V., & Monzón, G. P. (2011). RAIS: una estrategia para el manejo integral de conocimiento. Experiencias en ingeniería. *Ciencia e Ingeniería*, 115–122.
- Santos, J., Rodriguez, H., & Gutiérrez, M. (2009). DISEÑO DE UN SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BIOREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS APLICANDO EL MÉTODO DE BIOLABRANZA. *UNAM*, 10.
- Schroeder, R., Domínguez, V., & García, L. (1999). POTENCIAL DE LA BIORREMEDIACION DE SUELO Y AGUA IMPACTADOS POR PETROLEO EN EL TROPICO MEXICANO. *Terra*, 2, 159–174.
- SIPG. (2015). Refinacion.



- Universidad de Valencia. (2006). Fenómenos de superficie. En *Química* (Vol. 1, pp. 1–86). España.
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. (1999, septiembre). TOXICOLOGICAL PROFILE FOR TOTAL PETROLEUM HYDROCARBONS (TPH).
- Valdivia, M. (2005). Intoxicación por Plomo.
- Vallejo, V., Salgado, L., & Roldan, F. (2005, diciembre). Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7, 67–78.
- Varnero, M. T., Rojas, C., & Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 7(1), 28–37.
- Volke Sepúlveda, T., & Velasco Trejo, J. A. (2000). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: SEMARNAP, Instituto Nacional de Ecología.
- Volke Sepúlveda, T., & Velasco Trejo, J. A. (2004). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México, D.F: Inst. Nacional de Ecología.
- World Meteorological Organization. (2008). *IPCC SCOPING MEETING ON RENEWABLE ENERGY SOURCES* (IPCC working group III). Germany: Springer.
- Zeppieri, S., Ramírez, Y., Molina, J., & López de Ramos, A. L. (2009). Estudio experimental de la tensión interfacial transitoria para sistemas alcanos-



agua-Tritón X-100 empleando la técnica de la gota emergente.

Información tecnológica, 20(6), 125–135.



ANEXOS

Anexo A: Resultados Temperatura.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE TEMPERATURA (°C)					
	FECHA					
	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
T1	20	21	23	22	22	21
T2 (RÉPLICA T1)	20	21	23	22	22	21
T3	19	20	22	21	21	20
T4 (RÉPLICA T3)	19	20	22	21	21	20
T5	20	21	23	22	22	21
T6 (RÉPLICA T5)	20	21	23	22	22	21
T7	19	20	22	21	21	20
T8 (RÉPLICA T7)	19	20	22	21	21	20
TESTIGO	19	19	20	20	19	19
TESTIGO (RÉPLICA)	19	19	20	20	19	19

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo B: Resultados de pH.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE pH (unidades)		
	FECHA		
	PRIMER MES	TERCER MES	SEXTO MES
Línea base 1	5.42	---	---
Línea base RÉPLICA	5.44	---	---
T1	6.17	6.49	6.84
T2(RÉPLICA T1)	6.23	6.54	6.90
T3	6.02	6.37	6.72
T4(RÉPLICA T3)	6.06	6.39	6.77

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



T5	6.22	6.53	6.89
T6 (RÉPLICA T5)	6.20	6.49	6.87
T7	6	6.31	6.65
T8 (RÉPLICA T7)	6.01	6.34	6.69
TESTIGO	5.46	5.48	5.49
TESTIGO (RÉPLICA)	5.48	5.49	5.49

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo C: Resultados de % Humedad.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE HUMEDAD (%)		
	FECHA		
	PRIMER MES	TERCER MES	SEXTO MES
Línea base 1	16.01 %	---	---
Línea base 2	16.01 %	---	---
T1	26.87 %	38.5%	59.5%
T2(RÉPLICA T1)	22.44 %	35.3%	56.4%
T3	27.55 %	38.4%	59.3%
T4(RÉPLICA T3)	26.55 %	38.3%	59%
T5	26.95 %	39.1%	60.1%
T6 (RÉPLICA T5)	27. 91 %	37.3%	56.2%
T7	26.93 %	37.2%	58.3%
T8 (RÉPLICA T7)	26.42%	38.1%	59.9%
TESTIGO	11.93 %	10.5%	10.1%
TESTIGO (RÉPLICA)	11.85 %	10.4%	10.1%

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo D: Resultados conteo de microorganismos.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS (UFC/gr)	
	FECHA	
	INICIO	FINAL
Línea base 1	5.80E+6	---
Línea base 2	5.82E+6	---
T1	5.92E+6	3,27E+07
T2 (RÉPLICA T1)	5.90E+6	3,20E+07
T3	5.85E+6	2,98E+07
T4 (RÉPLICA T3)	5.84E+6	3,01E+07
T5	5.88E+6	3,13E+07

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



T6 (RÉPLICA T5)	5.87E+6	3,16E+07
T7	5.84E+6	2,90E+07
T8 (RÉPLICA T7)	5.83E+6	2,93E+07
TESTIGO	5.81E+6	5,88E+06
TESTIGO (RÉPLICA)	5.81E+6	5,90E+06

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo E: Resultados de HTP.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE HTP (mg/kg)		
	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base 1	23108	---	---
Línea base2	20808	---	---
T1	---	8032	2363
T2 (RÉPLICA T1)	---	9180	2484
T3	---	10268	3235
T4 (RÉPLICA T3)	---	9463	3154
T5	---	11309	1547
T6 (RÉPLICA T5)	---	9540	3517
T7	---	9931	3984
T8 (RÉPLICA T7)	---	10556	3052
TESTIGO	---	10206	6242
TESTIGO (RÉPLICA)	---	10124	7253
Promedio de reducción al tercer mes			11598,125
Promedio de reducción al sexto mes			6867,875
Promedio de reducción de los testigos al tercer mes			10643
Promedio de reducción al sexto mes			7225,5

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo F: Resultados de Plomo.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE PLOMO (mg/kg)		
	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base 1	59	---	---
Línea base2	50	---	---
T1	---	69	68
T2 (RÉPLICA T1)	---	58	71
T3	---	59	63
T4 (RÉPLICA T3)	---	62	68
T5	---	62	73
T6 (RÉPLICA T5)	---	59	60
T7	---	67	61
T8 (RÉPLICA T7)	---	50	51
TESTIGO	---	70	90
TESTIGO (RÉPLICA)	---	72	86
Promedio de incremento al tercer mes			6,25
Promedio de incremento al sexto mes			9,875
Promedio de incremento de los testigos al tercer mes			16.5
Promedio de incremento de los testigos al sexto mes			33,5

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo G: Valores Mensual Promedio de HTP.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE HTP (mg/kg)		
	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base	21958	---	---
T1	---	8606	2423,5

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



T3	---	9865,5	3194,5
T5	---	10424,5	2532
T7	---	10243,5	3518
Testigo	---	10165	6747,5
Promedio de reducción al tercer mes			12173,125
Promedio de reducción al sexto mes			6867.875
Reducción del testigo al tercer mes			19041
Reducción del testigo al sexto mes			10165

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo H: Valores Promedio Plomo.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE PLOMO (mg/kg)		
	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base	54.5	---	---
T1	---	63,5	69,5
T3	---	60,5	65,5
T5	---	60,5	66,5
T7	---	58,5	56
Testigo	---	71	88
Promedio de incremento al tercer mes			6.25
Promedio de incremento al sexto mes			9.88
Incremento del testigo al tercer mes			16.5
Incremento del testigo al sexto mes			33.5

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Anexo I: Valores promedio de Temperatura durante la investigación.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE TEMPERATURA (°C)					
	FECHA					
	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
T1	20	21	23	22	22	21
T3	19	20	22	21	21	20
T5	20	21	23	22	22	21
T7	19	20	22	21	21	20
Testigo	19	19	20	20	19	19

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo J: Valores promedio de pH durante la investigación.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE pH (unidades)		
	FECHA		
	PRIMER MES	TERCER MES	SEXTO MES
Línea base 1	5.42	---	---
T1	6.17	6,2	6,515
T3	6.02	6,04	6,38
T5	6.22	6,21	6,51
T7	6	6,005	6,325
TESTIGO	5.46	5,47	5,485

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo K: Valores Promedio de % Humedad durante la investigación.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE HUMEDAD (%)
--------------	-------------------------

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base	16,01	---	---
T1	---	24,655	36,9
T3	---	27,05	38,35
T5	---	27,43	38,2
T7	---	26,675	37,65
Testigo	---	14,675	13,75

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo L: Valores promedio de conteo de microorganismos durante la investigación.

TRATAMIENTOS	ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS (UFC/gr)		
	FECHA		
	Agosto	Octubre	Febrero
Línea base	5,81E+06	---	---
T1	---	5,91E+06	3,24E+07
T3	---	5,85E+06	3,00E+07
T5	---	5,88E+06	3,15E+07
T7	---	5,84E+06	2,92E+07
Testigo	---	5,81E+06	5,89E+06

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo M: Aleatorización de corridas.

OrdenEst	OrdenCorrida	PtCentral	Bloques	Surfactante	Compost
3	1	1	1	4	3
5	2	1	1	0.5	6
8	3	1	1	0.5	3
4	4	1	1	4	3
2	5	1	1	4	6
1	6	1	1	4	6
6	7	1	1	0.5	6

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



7	8	1	1	0.5	3
---	---	---	---	-----	---

Fuente: (Minitab, 2010)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 1: Reporte climatológico de la región Azuay

Mes	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)
AGOSTO	14.1	14.8
SEPTIEMBRE	49.6	14.9
OCTUBRE	60.8	16.5
NOVIEMBRE	24.6	17.0
DICIEMBRE	93.7	16.9
ENERO	168.9	15.9

Fuente: (INAMHI, 2016)

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 2: Resultados Línea Base.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Rotulación Muestra:	LÍNEA BASE 1	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-ago-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S001	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	59	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	23108	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	LÍNEA BASE 2	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-ago-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S002	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	50	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	20808	EPA 8015 D / MM-S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Fuente: (Grüntec, 2016).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 3: Resultados 3 meses.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Rotulación Muestra:	TESTIGO 1	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S003	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	70	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	10206	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TESTIGO 2	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S004	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	72	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	10124	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 1	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S005	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	69	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	8032	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 2	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S006	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	58	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	9180	EPA 8015 D / MM-S-23



Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 3	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S007	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	59	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	10268	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 4	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S008	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	62	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	9463	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 5	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S009	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	62	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	11309	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 6	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S010	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	59	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	9549	EPA 8015 D / MM-S-23
Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 7	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S011	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	67	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	9931	EPA 8015 D / MM-S-23



Rotulación Muestra:	TRATAMIENTO 8	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo:	05-nov-16	
No. Reporte Grüntec:	1612036-S012	
Metales en peso seco:		
Plomo mg/kg ^(1,2)	50	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Parámetros Orgánicos en peso seco:		
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	10556	EPA 8015 D / MM-S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Fuente: (Gruntec, 2016).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 4: Resultados 6 meses.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Testigo 1	Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Testigo 2
Fecha de Muestreo:	06-feb-17	Fecha de Muestreo:	06-feb-17
No. Reporte Grüntec:	1702101-S009	No. Reporte Grüntec:	1702101-S010
Metales en peso seco:		Metales en peso seco:	
Plomo mg/kg ^(1,2)	90	Plomo mg/kg ^(1,2)	86
Parámetros Orgánicos en peso seco:		Parámetros Orgánicos en peso seco:	
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	6242	Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	7253
Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 1	Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 2
Fecha de Muestreo:	06-feb-17	Fecha de Muestreo:	06-feb-17
No. Reporte Grüntec:	1702101-S001	No. Reporte Grüntec:	1702101-S002
Metales en peso seco:		Metales en peso seco:	
Plomo mg/kg ^(1,2)	68	Plomo mg/kg ^(1,2)	71
Parámetros Orgánicos en peso seco:		Parámetros Orgánicos en peso seco:	
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	2363	Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	2484
Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 3	Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 4
Fecha de Muestreo:	06-feb-17	Fecha de Muestreo:	06-feb-17
No. Reporte Grüntec:	1702101-S003	No. Reporte Grüntec:	1702101-S004
Metales en peso seco:		Metales en peso seco:	
Plomo mg/kg ^(1,2)	63	Plomo mg/kg ^(1,2)	68
Parámetros Orgánicos en peso seco:		Parámetros Orgánicos en peso seco:	
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	3235	Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	3154
Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 5	Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 6
Fecha de Muestreo:	06-feb-17	Fecha de Muestreo:	06-feb-17
No. Reporte Grüntec:	1702101-S005	No. Reporte Grüntec:	1702101-S006
Metales en peso seco:		Metales en peso seco:	
Plomo mg/kg ^(1,2)	73	Plomo mg/kg ^(1,2)	60
Parámetros Orgánicos en peso seco:		Parámetros Orgánicos en peso seco:	
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	1547	Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	3517



Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 7	Rotulación Muestra:	Fecha: 06-02-2017 Empresa : Celec- EP Hidropaute Sector: Gasolinera Código: Tratamiento 8
Fecha de Muestreo:	06-feb-17	Fecha de Muestreo:	06-feb-17
No. Reporte Grüntec:	1702101-S007	No. Reporte Grüntec:	1702101-S008
Metales en peso seco:		Metales en peso seco:	
Plomo mg/kg ^(1,2)	61	Plomo mg/kg ^(1,2)	51
Parámetros Orgánicos en peso seco:		Parámetros Orgánicos en peso seco:	
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	3984	Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,2)	3052

Fuente: (Grüntec, 2016).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 5: Límites permisibles.

Decreto Ejecutivo 1215

Gustavo Noboa Bejarano

PRESIDENTE CONSTITUCIONAL DE LA REPÚBLICA

Tabla 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

Los límites permisibles a aplicarse en un proyecto determinado dependen del uso posterior a darse al suelo remediado, el cual constará en el respectivo Programa o Proyecto de Remediación aprobado por la Subsecretaría de Protección Ambiental.

De presentar los suelos naturales (no contaminados) del área concentraciones superiores a los límites establecidos, se pueden incrementar los valores del respectivo parámetro hasta este nivel, siempre que se haya comprobado este

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



fenómeno estadísticamente a través de un monitoreo de suelos no perturbados ni influenciados en el mismo área.

El monitoreo consistirá de una caracterización inicial del sitio y/o material a remediarse, un monitoreo de por lo menos un muestreo con los respectivos análisis cada seis meses, y una caracterización final una vez concluidos los trabajos. Dependiendo de la tecnología de remediación aplicada, la frecuencia del monitoreo será mayor, conforme al Programa o Proyecto de Remediación aprobado por la Subsecretaría de Protección Ambiental.

Anexo 6: Límites permisibles.

Parámetro	Expresado en	Unidad	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Plomo	Pb	mg/kg	<100	<500	<80

Fuente: (RAOHE, 2010).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 7: Hoja de seguridad de Ácido Húmico 75%.

Ácido Húmico 75%

IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO:

NOMBRE DEL PRODUCTO (según etiquetado): ACIDOS HUMICOS 75 %

INGREDIENTES PELIGROSOS

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



NOMBRES QUÍMICOS	#CAS	EXPOSICIÓN ACGIH TLV	OSHA PEL	OTROS (especificar)
---------------------	------	-------------------------	----------	------------------------

OSHA límites permitidos de exposición: No establecida

Peligro Clase: No regulada

PROPIEDADES FISICAS

Densidad de Vapor: N/A

Densidad (H₂O a 19 C): 2,52

Solubilidad en Agua: en peso 100 %

Presión de vapor mmHg a 20 C: N/A

Apariencia y Olor: Café oscuro a negro

Punto de Fusión (rango F): 1605 F

Punto de Ebullición (rango F): N/A

Velocidad de Evaporación (Butil Acetato): N/A

DATOS DE PELIGRO DE INCENDIO Y EXPLOSION

Volatilidad F: No definida

Temperatura de Auto ignición: No –combustible

Límites de inflamación en aire, volumen: Bajo ----- Alto -----

Materiales para extinguir el incendio: Dióxido de carbono, agua, químico seco.

Peligros extraordinarios de incendio y explosión: no

DATOS SOBRE PELIGROS A LA SALUD

Síntomas de sobre-exposición, diferentes rutas de entrada

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



INHALACION: Las concentraciones en el aire, causan un daño respiratorio y produce neumonía, dependiendo de la severidad de la exposición.

CONTACTO CON PIEL Y OJOS: Irritación moderada, puede ser causada por una exposición prolongada o repetida.

ABSORVIDA A TRAVES DE LA PIEL: Una severa irritación causa destrucción del tejido si no es tratada inmediatamente.

INGESTION: Puede ser irritante para las membranas mucosas o la garganta, estomago, boca, y esófago dependiendo de la cantidad ingerida.

PRIMEROS AUXILIOS PROCEDIMIENTOS DE EMERGENCIA

CONTACTO CON LOS OJOS: Lavar los ojos inmediatamente. Buscar atención médica.

CONTACTO CON LA PIEL: Lavar el área contaminada con gran cantidad de agua. Remover la ropa contaminada.

INHALACION: Remover a un lugar fresco. Si ha parado de respirar, buscar atención médica.

INGESTION: No inducir al vomito. Dar a beber abundante agua o leche.

AGENTE CANCERIGENO: NO, este producto no se encontró en las siguientes listas: (OSHA Federal, NTP, IARC).

DATOS DE REACTIVIDAD

Estabilidad: Estable

Incompatibilidad: No mezclar con químicos cáusticos.

Peligros de Polimerización: No ocurren

Condiciones a Evitar: No conocidos – Polimerización

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Descomposición de Productos Peligrosos (inclusive productos de combustión):

No

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR EN CASO DE DERRAME - ESCAPE DEL PRODUCTO – DESECHOS

Respuesta a los derrames (incluir equipo de protección para los empleados).

Limpiar los derrames inmediatamente barriendo o recogiendo el derrame.

Manejo de Desechos: Desechar el producto de acuerdo a las leyes locales.

INFORMACION ESPECIAL DE MANEJO

Ventilación y Controles de Ingeniería: Trabajar en áreas bien ventiladas.

Protección respiratoria: Use mascarilla aprobada tipo NIOSH/MSHA

Protección de Ojos: Use gafas diseñadas para químicos y/o mascarilla de plástico para toda la cara.

Guantes: use guantes para químicos.

Equipos y otras ropas: Ropa de trabajo y zapatos resistentes al químico.

Prácticas de Trabajo – Prácticas de higiene

Otros procedimientos para Almacenamiento y Manejo del Producto.

Fuente: (Grow More, 1994).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 8: Hoja de características de Ácido Húmico 75%.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Ácido Húmico 75%

Fertilizante al suelo: Granulado

Recomendado para la distribución superficial o incorporación en suelos que contienen bajos niveles de materia orgánica tales como: Arenosos, pedregosos, arcillosos o limo arcillosos. Incrementa la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) en el suelo y mejora la porosidad y estructura del suelo.

COMPOSICIÓN QUÍMICA:

PROPIEDADES: Es una sustancia húmica natural que provee materia orgánica, ácido húmico y ácido fúlvico de forma natural y liberación lenta. El ÁCIDO HÚMICO 75% granular es secado al aire, no higroscópico y se mezcla fácilmente con suelos neutros y otros materiales para mejorar su capacidad de intercambio catiónico por varios años. Puede ser aplicado directamente al suelo en su forma granulada, como una enmienda de suelo o mezclado con fertilizantes granulados.

INSTRUCCIONES DE USO:

Dependiendo del tipo de suelo, su humedad y pH, use entre 0.10% a 10%, es decir de 25 a 220 kg por hectárea. Para suelos con altos contenidos de sales de Boro, Cloro y Sodio use de 220 a 330 kg por hectárea. Para suelos con bajos contenidos de materia orgánica: Para suelos arenosos, gruesos o arenoso limosos: Use 220 kg por hectárea. Para suelos arcillosos o suelos pesados: Use de 165 a 195 kg por hectárea. Para suelos francos: Use 110 kg por hectárea. Para suelos agrícolas: Use de 25 a 90 kg por hectárea.

PRECAUCIONES:

En caso de intoxicación consultar con un médico y mostrarle la etiqueta o llamar al centro de información toxicológica.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA



Fuente: (ECUAQUIMICA, 2008).

Elaboración: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 9: Traslado de muestra contaminada.



Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 10: Construcción de vivero



Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

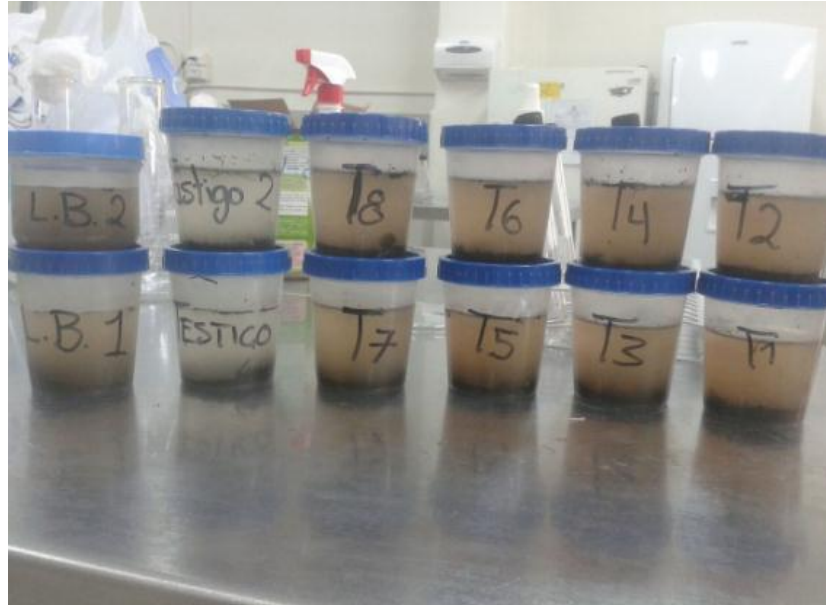
Anexo 11: Homogenización del sedimento contaminado.



Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA

Anexo 12: Análisis de muestras.



Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

Anexo 13: Vivero.



Fotografía: Santiago Flores / Jorge Mendoza.

CARLOS SANTIAGO FLORES BARRETO
JORGE PATRICIO MENDOZA SIGUENCIA